GE Healthcare

Colonnes BPG

Instructions d'utilisation





Informations importantes pour les utilisateurs

Tous les utilisateurs doivent lire entièrement ce manuel afin de bien comprendre l'utilisation en toute sécurité des colonnes BPG.

AVERTISSEMENT



Le message AVERTISSEMENT ! signale des instructions qui doivent être suivies afin de prévenir le risque de blessures. Ne pas poursuivre avant que toutes les conditions indiquées soient réunies et parfaitement comprises.

ATTENTION !

Le message ATTENTION ! signale des instructions qui doivent être suivies afin de prévenir le risque d'endommagement du produit ou des autres équipements. Ne pas poursuivre avant que toutes les conditions indiquées soient réunies et parfaitement comprises.

Remarque

Le message Remarque sert à indiquer des informations importantes pour une utilisation optimale et efficace du produit.

Certification CE

Ce produit répond à toutes les exigences des directives CE en vigueur. Une copie de la Déclaration de conformité correspondante est disponible sur demande.

Le symbole **CE** et la déclaration de conformité correspondante sont valables pour l'instrument lorsque celui-ci est :

- utilisé en tant qu'appareil indépendant ou
- connecté à d'autres instruments GE Healthcare portant le label CE ou
- connecté à d'autres produits recommandés ou décrits dans ce manuel et
- utilisé dans l'état où il a été livré par GE Healthcare , à l'exception des modifications décrites dans ce manuel

Précautions de sécurité

IMPORTANT !
Chaque fois que l'on utilise la colonne, toujours conserver à portée de main le manuel d'instructions de la colonne.

IMPORTANT !
L'utilisateur final doit s'assurer que toutes les opérations d'installation, d'entretien, de fonctionnement et d'inspection sont effectuées par du personnel qualifié, correctement formé à cet effet et capable de comprendre les instructions d'utilisation.



AVERTISSEMENT ! Toujours utiliser des vêtements de protection adaptés à l'application en cours afin de garantir la sécurité des personnes au cours de l'utilisation.



AVERTISSEMENT ! Se montrer particulièrement attentif lorsque l'on travaille à proximité de la colonne.



AVERTISSEMENT ! Ne JAMAIS introduire d'air ou de gaz sous pression dans la colonne.



AVERTISSEMENT ! La pression de fonctionnement de la colonne ne doit jamais dépasser la pression de service maximale, sous peine d'entraîner un risque de blessures au personnel et de dommages à la colonne. Un dispositif de sécurité adéquat doit être prévu.



AVERTISSEMENT ! La plage de température de fonctionnement de la colonne ne doit jamais se situer en-dehors de la plage de température de service maximale.



AVERTISSEMENT ! Ne pas utiliser d'autres produits chimiques que ceux dont il a été démontré qu'ils sont sans danger pour les parties humides de la colonne.



AVERTISSEMENT ! Les freins des roues doivent être activés en permanence durant le fonctionnement ou le stockage.



AVERTISSEMENT ! Se montrer particulièrement attentif lors du déplacement de la colonne pour avoir l'assurance que la colonne ne s'incline pas.

ATTENTION ! S'assurer que l'eau utilisée avec la colonne est exempte de particules car les particules risquent de bloquer et d'endommager les mèches.

Table des matières

1 Introduction

1.1 Généralités

Les colonnes BPG sont destinées aux applications industrielles qui exigent des normes d'hygiène très strictes. Ces colonnes sont disponibles pour des volumes de support de séparation chromatographique allant jusqu'à 131 litres et permettent l'utilisation de débits élevés.

Lorsque les colonnes BPG sont utilisées en association avec des supports BioProcess, par exemple le Sepharose Fast Flow et le Sephacryl High Resolution, elles permettent de satisfaire aux exigences les plus sévères en matière de réglementation. Les matériaux qui entrent dans la fabrication des colonnes BPG ont été soigneusement sélectionnés pour résister aux produits de décontamination et de nettoyage, par exemple l'hydroxyde de sodium et l'éthanol.

Leurs spécifications de pression et de faible résistance à l'écoulement font que ces colonnes conviennent pour être utilisées avec les supports BioProcess pour la chromatographie d'échange d'ions, d'interaction hydrophobe, d'affinité et de filtration sur gel. Le dessalage au Sephadex G-25 de calibres grossier (Coarse), moyen (Medium), fin (Fine) et superfin (SuperFine) peut également être utilisé efficacement. Le système de distribution de l'écoulement a été développé pour répondre aux performances élevées des supports GE Healthcare.

Toutes les colonnes BPG sont livrées complètes avec un adaptateur. Des systèmes de compactage (package) sont disponibles pour les applications qui nécessitent des hauteurs de gel importantes.

Le montage de la colonne et des protocoles de compactage (package) de la colonne pour les supports BioProcess sont également décrits dans ce manuel. Un chapitre spécial du guide d'entretien des colonnes BPG (chapitre 1) est consacré aux protocoles de maintenance de la colonne applicables aux exigences des procédés individuels.

Les trois principaux groupes de composants qui constituent la colonne (adaptateur, colonne proprement dite et support) sont illustrés par les schémas éclatés en plusieurs volets qui se trouvent à la fin de ce manuel.

Les composants de base de la colonne sont :

- tube en verre ;
- bride ;
- joints toriques ;
- tamis de filtration ;
- tamis de soutien ;
- pièce terminale ;
- tiges.

Les tiges fixent la bride et la pièce terminale au tube en verre, lequel est rendu hermétique par des joints toriques. Les joints toriques isolent efficacement le tube en verre de tout contact direct avec les composants en acier inoxydable. La plaque supérieure de l'adaptateur et l'écrou de réglage sont fixés par des colliers ou boulonnés à la bride de la colonne. L'écrou de réglage tourne sur une bague annulaire au niveau de la plaque supérieure, ce qui permet de modifier la hauteur de l'adaptateur à l'intérieur du tube de la colonne. Le joint torique de l'adaptateur forme un joint d'étanchéité entre l'adaptateur et la colonne en verre lorsqu'il est comprimé par l'appareil d'étanchéité. L'étanchéité est contrôlée par la molette de réglage du joint d'étanchéité. Le support est boulonné à la pièce terminale de la colonne et est équipé de roulettes avec freins à pédale.

Remarque : *Les colonnes BPG 100 sont dotées de pieds réglables. Des roulettes sont disponibles en option.*

Les colonnes BPG ne peuvent pas être utilisées dans d'autres buts, par exemple :

- cuve de stockage pour produits chimiques, etc. ;
- récipient sous pression en général ;
- cuve à fermentation ;
- stockage de gaz.

1.2 Étiquetage de la colonne

Le label CE sur l'étiquette d'identification indique que la colonne répond aux exigences de la directive européenne relative aux équipements sous pression (PED) 97/23/CE et/ou à celles de la directive concernant les équipements utilisés sous des atmosphères potentiellement explosives (ATEX100) 94/9/CE. Les colonnes pour lesquelles le rapport du volume et de la pression autorisée est trop faible ne peuvent pas porter le label CE selon la directive PED. Les équipements livrés en-dehors de la communauté européenne ne portent pas nécessairement le label CE.

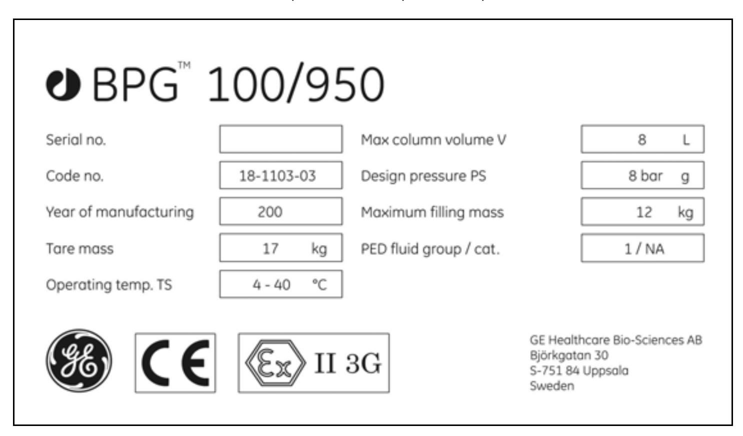


Fig 1-1. Exemple de plaque signalétique d'une colonne BPG.

1.3 Sécurité

1.3.1 Généralités

Les informations fournies dans ces instructions d'utilisation constituent les meilleures pratiques de fonctionnement conseillées et n'auront en aucun cas la préséance par rapport aux responsabilités individuelles ou aux réglementations locales. Nous avons accordé une attention toute particulière à la conception et à la fabrication des différentes pièces de cet équipement de manière à le rendre conforme à toutes les règles de sécurité applicables pour ce type d'équipement. Au cours du fonctionnement et pendant tout autre travail utilisant un récipient sous pression, chaque individu a toujours la responsabilité de prendre en considération :

- sa propre sécurité et celle des autres personnes ;
- la sécurité de l'équipement par le biais d'une utilisation correcte et conforme aux descriptions et instructions fournies dans ces instructions d'utilisation.

1.3.2 Avertissements



AVERTISSEMENT ! Le symbole d'avertissement signale des instructions qui doivent impérativement être suivies de manière stricte pour éviter des blessures aux personnes. Ne pas continuer avant d'avoir clairement compris les instructions et tant que toutes les conditions stipulées ne sont pas remplies.

1.3.3 Notifications d'attention

ATTENTION ! Le symbole d'attention signale des instructions ou des conditions qui doivent être suivies afin d'éviter des dommages au produit ou à d'autres équipements. Ne pas continuer avant d'avoir clairement compris les instructions et tant que toutes les conditions stipulées ne sont pas remplies.

1.3.4 Remarques

Remarque : *Le symbole de remarque est utilisé pour indiquer des informations importantes pour une utilisation sans problème et optimale du produit*.

1.3.5 Résistance aux produits chimiques

Des spécifications comprenant la résistance aux produits chimiques figurent au chapitre 3 de ces instructions d'utilisation.

1.3.6 Utilisation sous des atmosphères potentiellement explosives

Les colonnes BPG ne contiennent aucun circuit électrique. Néanmoins, les précautions suivantes doivent toujours être respectées :

- Éviter les décharges d'électricité statique en reliant la colonne à la terre. Utiliser un câble de mise à la terre relié au réseau de terre de l'usine. Un kit de mise à la terre est proposé en option.
- Seuls les outils conçus pour être utilisés sous des atmosphères potentiellement explosives peuvent être utilisés lors de l'utilisation et de l'entretien de la colonne.
- Toujours porter des vêtements de protection adaptés lors de l'utilisation dans des environnements potentiellement explosifs.

Catégorie EX
Le code de catégorie EX figurant sur l'étiquette d'identification définit le niveau de protection contre l'explosion de l'équipement. La catégorie EX de l'équipement doit être conforme au niveau de protection de la salle dans laquelle il est utilisé.

Ex II 3 G
Les équipements de cette catégorie sont conçus pour pouvoir être utilisés conformément aux paramètres de fonctionnement définis par le fabricant et garantir un niveau de protection normal. Les équipements de cette catégorie sont destinés à être utilisés dans des endroits où des atmosphères explosives produites par des gaz, des vapeurs ou des brouillards n'ont que peu de chances de se former ou, si elles se forment, n'apparaissent que rarement et seulement pendant de brèves périodes.

1.4 Opérateurs agréés

Une colonne BPG est une pièce d'équipement comparable à un récipient sous pression à volume variable. L'opérateur doit avoir une expérience suffisante de l'utilisation de récipients sous pression, ainsi que des équipements délivrant un gel sous pression pour le contrôle du compactage (package) par compression axiale. Pour utiliser la colonne en toute sécurité et correctement, l'opérateur doit avoir lu, compris et mémorisé les instructions d'utilisation en général et les instructions de sécurité en particulier. Une utilisation incorrecte de la colonne risque d'entraîner des dommages aux biens et des blessures aux personnes.

1.5 Stockage des colonnes BPG conditionnées avec un support

Les colonnes BPG conditionnées avec un support sont stockées dans la solution bactériostatique recommandée pour le support. Avant d'appliquer la solution bactériostatique, il est d'une importance capitale que la colonne soit nettoyée avec 0,5M d'hydroxyde de sodium ou d'une autre solution NEP recommandée pour le support. Il est également important de rincer la colonne pour la débarrasser de tous les ions chlorure résiduels. La rincer à l'eau déminéralisée

après le nettoyage NEP avec au moins cinq volumes de colonne. Appliquer ensuite la solution bactériostatique. La colonne est prête à être stockée.

Protocole de stockage à sec

1 Démonter la colonne.

2 Réaliser la maintenance habituelle, c'est-à-dire le remplacement des joints toriques, etc.

3 Sécher consciencieusement tous les composants de la colonne.

4 Assembler la colonne.

5 Sceller tous les orifices d'entrée et de sortie de la façon indiquée dans le protocole de stockage à sec décrit ci-après.

6 Emballer la colonne dans un plastique afin qu'elle ne soit pas exposée à la poussière ou à d'autres contaminants véhiculés par l'air.

7 Stocker la colonne à une température ambiante contrôlée dans un endroit propre et sec.

Remarque : *Éviter de stocker la colonne dans un endroit susceptible de connaître d'importantes variations de température.*

1.5.1 Nettoyage après utilisation avec du chlorure de sodium

Si un processus implique l'utilisation de solutions de chlorure de sodium, la colonne doit être parfaitement rincée afin d'en retirer tout résidu potentiel de chlorure de sodium. Rincer la colonne en la remplissant au moins cinq fois d'eau. L'eau est la solution de rinçage privilégiée en raison des propriétés de solubilité du chlorure de sodium dans l'eau, que l'on ne retrouve pas avec d'autres solutions de rinçage comme l'éthanol.

Le protocole de rinçage doit utiliser au moins cinq volumes de colonne d'eau déminéralisée afin de garantir une élimination optimale des ions chlorures résiduels, potentiellement corrosifs pour l'acier inoxydable dans le temps.

La conception de la colonne BPG permet de placer le tampon sur le dessus de l'adaptateur au moment du conditionnement. Une fois le conditionnement effectué et le joint torique scellé, il est essentiel que toute trace de tampon comprenant des ions chlorure soit éliminée de cet espace afin de prévenir la corrosion dans le temps.

Consulter également la section 4.3 Résistance chimique pour plus de détails sur le chlorure de sodium.

1.6 Élimination et recyclage

Lorsque la colonne est parvenue au terme de sa durée de vie, elle doit être éliminée conformément à la législation et aux réglementations en vigueur sur les aspects environnementaux du recyclage et de l'élimination des équipements industriels. Cette responsabilité incombe à l'utilisateur final ou à son équivalent. Contacter les autorités locales pour d'éventuelles questions relatives aux problèmes d'environnement ou à la législation en vigueur concernant le recyclage ou l'élimination des équipements industriels de ce type.

1.6.1 Matériaux et matières

Pour l'élimination, les matériaux utilisés sont généralement subdivisés selon les catégories suivantes :

- Inflammables
- Bois
- Composites (par exemple matériaux recouverts d'une feuille de plastique ou de métal)
- Papier
- Non inflammables
- Métaux

Remarque : *Les métaux dangereux ou contenant des matières dangereuses (par exemple plomb, cadmium, mercure, etc.) doivent être séparés et éliminés de manière appropriée.*

- Plastiques, séparés en plastiques durs (durcis) et souples (thermoplastiques)
- Matériaux compostables (tous les matériaux ou matières pouvant être convertis en terre dans un avenir suffisamment proche)
- Matériaux devant être stockés (un petit nombre de matériaux et matières non recyclables doivent être stockés ; les sites de stockage sont réglementés par les autorités locales)

1.6.2 Colonnes BPG

Avant d'éliminer l'équipement constituant la colonne, effectuer les opérations suivantes :

- La colonne doit être vidée, nettoyée et stérilisée.
- Pour les métaux non inflammables comme l'acier inoxydable, contacter un ferrailleur local agréé.

1.7 Objectif de ce manuel

Ce manuel est destiné à servir d'introduction générale et de guide au fonctionnement de la colonne. Plus particulièrement, le manuel couvre les sujets suivants :

- Introduction (Chapitre 1)
- Déballage de la colonne (Chapitre 2)
- La colonne BPG (Chapitre 3)
- Installation et test des fuites (Chapitre 4)
- Fonctionnement (Chapitre 5)
- Abréviations (Chapitre 6)

Le manuel qui l'accompagne, « Guide d'entretien des colonnes BPG », couvre les sujets suivants :

- Maintenance et entretien (Chapitre 1)
- Dépannage (Chapitre 2)
- Informations de commande (Chapitre 3)

2 Déballage de la colonne

Déballer soigneusement l'équipement et contrôler les éventuels signes de dommages qui pourraient être survenus pendant le transport.

2.1 Références des tubes et des supports pour colonne

Le tableau 2-1 ci-dessous reprend les références des tubes et supports pour colonnes correspondant aux différents diamètres de colonnes – contrôler les références du nouvel équipement afin d'en vérifier la correspondance.

Tableau 2-1. Références des tubes et supports pour colonnes.

Diamètre de la colonne (mm)	Longueur du tube de la colonne (mm)			Support
	500	750	950	
100	18-1103-01	18-1103-02	18-1103-03	18-1031-10
140	18-1113-08	-	18-1113-09	18-1031-20
200	18-1103-11	18-1103-12	18-1103-13	18-1031-20
300	18-1103-21	18-1103-22	18-1103-23	-
450	18-1103-71	18-1103-72	18-1103-73*	-

* La hauteur de tube de la colonne BPG 450 est de 1000 mm.

Remarque : *Il est nécessaire de commander à la fois le support et la colonne pour recevoir une configuration complète de colonne pour les modèles BPG 100, 140 et 200.*

2.2 Composants fournis

Vérifier que tous les composants repris au tableau 2-2 ci-dessous sont présents.

Tableau 2-2. Nombre de composants livrés avec les colonnes BPG.

Désignation	Quantité				
	BPG 100	BPG 140	BPG 200	BPG 300	BPG 450
Bride pleine avec joint d'étanchéité, EPDM	2	2	2	2	2
Collier 23 mm, 51 mm	2	2	2	2	2
Support	-	-	-	1	1
Tamis 23 µm	2	2	2	2	2
Boulons pour fixation du support à la colonne	-	-	-	6	4
Manuels d'utilisation/d'entretien (chacun)	1	1	1	1	1

3 Installation et test des fuites

Toutes les colonnes BPG utilisent comme connecteurs des raccords sanitaires à collier.

Attention ! Utiliser exclusivement des tuyaux et colliers homologués pour la pression maximale de la colonne et résistant aux produits chimiques qui seront utilisés.

Attention ! Placer la colonne en-dehors d'une zone de passage afin de la protéger contre tout déplacement ou collision accidentel. Veiller à ne pas marcher ou trébucher sur les tuyaux qui se trouvent sur le sol.

3.1 Démontage et montage

Démonter et monter les colonnes et adaptateurs conformément aux instructions des sections ci-après. Se reporter aux tableaux A-1 à A-3 et aux figures A-1 à A-5 pour l'identification des éléments (ces tableaux et figures se trouvent à la fin du présent manuel). Les numéros entre parenthèses ( ) dans les sections ci-après font référence aux numéros identifiant les éléments dans les figures et tableaux correspondants à la fin du présent manuel.



AVERTISSEMENT ! Après réassemblage, contrôler l'étanchéité de la colonne et l'absence de fuites.

3.1.1 BPG 100, 140 et 200

Démontage de la colonne

Pour le démontage des colonnes BPG 100, 140 et 200, se reporter au tableau A-1 et aux figures A-1 et A-2 à la fin du présent manuel et procéder comme suit :

1 Retirer les écrous à calotte sphérique (18) et les rondelles (14) qui fixent l'adaptateur à la bride (10).



AVERTISSEMENT ! Si le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur est sec, il risque d'être endommagé par le mouvement forcé de l'adaptateur. humecter le joint torique avec de l'eau ou une solution à 20 % d'éthanol. Ne PAS graisser le joint torique.

2 Dévisser la molette de réglage (17) de quelques tours afin de libérer le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur (28/29) et retirer l'adaptateur.

3 Au moyen d'une clé à douille et dans l'ordre illustré à la figure 4-1, retirer les écrous (8) et les rondelles à ressort (9) qui fixent les tiges de soutien (2) à la bride (10).



AVERTISSEMENT ! Ne pas dévisser complètement chaque écrou en une seule fois. Desserrer les écrous petit à petit dans l'ordre illustré à la figure 4-1. Trois à quatre tours par écrou suffisent à dévisser et à retirer correctement les écrous. Il est nécessaire de placer une clé à molette sur les parties aplaties des tiges pour éviter que celles-ci ne se dévissent.

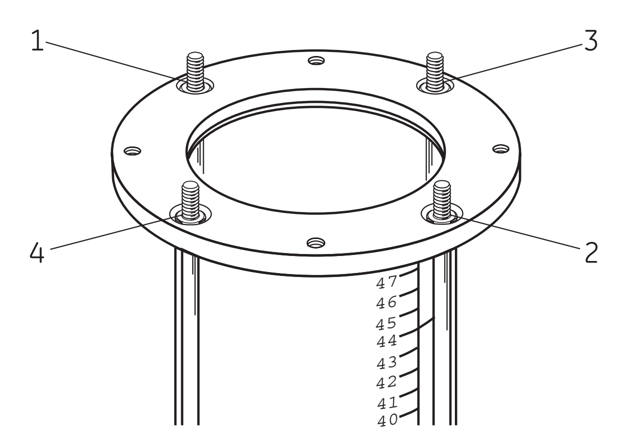


Fig 3-1. Ordre de démontage et de serrage des écrous.



AVERTISSEMENT ! Lorsque l'on retire la bride, plus rien ne soutient le tube de la colonne. Veiller à éviter que le tube de la colonne ne bascule.

4 Retirer précautionneusement la bride (10).

5 Avec une clé à molette, dévisser les tiges de soutien (2) de la pièce terminale (12).

6 Soulever le tube en verre (1). Déposer avec précaution le tube en verre à un endroit sûr. Si le joint torique adhère au tube en verre ou à la pièce terminale, humecter le joint torique avec de l'éthanol à 20 % avant de le retirer.

7 À l'aide d'une clé, retirer les boulons (13) et les rondelles (14) qui fixent la pièce terminale (12) au support (15). Séparer la pièce terminale du support.

Montage de la colonne

Pour le montage des colonnes BPG 100, 140 et 200, se reporter au tableau A-1 et à la figure A-2 à la fin du présent manuel. Procéder comme suit :

Remarque : *Humecter le tamis avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer l'air piégé.*

1 En se reportant à la figure 4-2 ci-après, contrôler que les éléments suivants sont correctement positionnés dans la pièce terminale (12) :

- tamis de soutien (5) ;
- tamis de filtration (4) ;
- anneau de guidage en PTFE (3) ;
- joint torique (6/7).

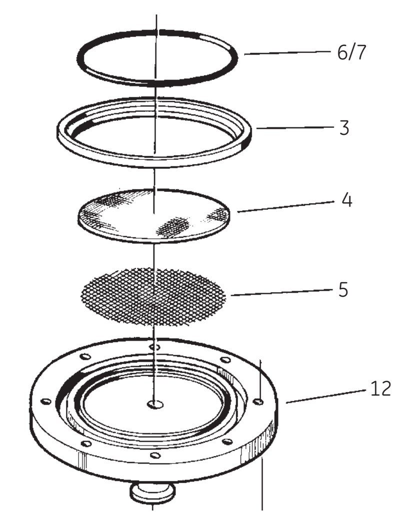


Fig 3-2. Emplacement des composants de la pièce terminale pour les colonnes BPG 100, 140 et 200.

2 Fixer la pièce terminale (12) au support (15) à l'aide des boulons (13) et des rondelles (14).

3 Positionner précautionneusement le tube en verre (1) sur le joint torique (6/7) de la pièce terminale (12). Vérifier que le tube en verre n'est en contact avec aucune pièce en acier inoxydable. Aligner le tube avec le tamis de filtration (4).

4 Visser les tiges de soutien (2) dans la pièce terminale (12).

5 Positionner la bride (10) de telle sorte que les tiges de soutien (2) viennent se placer dans les trous correspondants. S'assurer que le joint torique (6/7) de la bride est aligné avec le tube en verre. Le tube en verre ne peut être en contact avec aucune pièce en acier inoxydable : sans cela, le tube en verre risque de casser.

6 Aligner la surface interne du tube en verre avec la surface interne de la bride.

7 Monter les rondelles à ressort (9) et les écrous (8) sur les tiges de soutien (2) et les serrer à la main.

8 Régler une clé dynamométrique selon les spécifications définies au tableau 4-1 ci-dessous et serrer les écrous (8) et les rondelles à ressort (9) afin de fixer les tiges de soutien (2) à la bride (10). Procéder dans l'ordre illustré à la figure 4-1 (c'est-à-dire serrer successivement les écrous diamétralement opposés).



AVERTISSEMENT ! Le tube en verre risque de casser si l'on applique une force excessive lors du serrage des quatre écrous sur les tiges de soutien (tiges qui fixent la bride et la pièce terminale à la colonne en verre). Toujours utiliser une clé dynamométrique pour le serrage de ces écrous.

Tableau 3-1. Réglages de la clé dynamométrique pour les colonnes BPG 100, 140 et 200.

	Colonne BPG		
	100	**140**	**200**
Moment (Nm)	4	5	5

9 La colonne est à présent prête à être utilisée et l'adaptateur peut être inséré.

Démontage de l'adaptateur

Pour le démontage de l'adaptateur des colonnes BPG 100, 140 et 200, se reporter au tableau A-1 et à la figure A-1 et procéder comme suit :

1 Retirer le tamis de filtration (36) en le courbant délicatement. Retirer le tamis de soutien (35). Veiller à ne pas rayer l'adaptateur car cela pourrait provoquer des fuites.
2 Retirer le butoir (25) de la plaque supérieure (21) en dévissant les boulons (24).
3 Libérer le système d'étanchéité (27) et le tube interne de l'adaptateur (30) en dévissant les boulons (26) situés sur l'anneau supérieur du système d'étanchéité.
4 Retirer précautionneusement la molette de réglage (17). Cela relâche la tension exercée sur le ressort (33) situé sous le tube interne de l'adaptateur (30).
5 Retirer la plaque supérieure (19–23) et la séparer de l'adaptateur externe (31) en la tournant dans le sens des aiguilles d'une montre.
6 Retirer le système d'étanchéité (27) et le joint torique de l'adaptateur (28/29).
7 Démonter le tube externe de l'adaptateur (31), le tube interne de l'adaptateur (30) et le ressort (33) en retirant les vis (32).
8 La plaque supérieure (19–23) peut être démontée en retirant les vis (23).

Cela termine la procédure de démontage de l'adaptateur.

Montage de l'adaptateur

Pour le montage de l'adaptateur des colonnes BPG 100, 140 et 200, se reporter à la figure A-4 (et au tableau A-1 pour les réglages de la clé dynamométrique) et procéder comme suit :

1 Positionner la bague annulaire (20) dans l'encoche de la plaque supérieure (21).
2 À l'aide des vis (23), fixer la douille de l'écrou de réglage (22) au corps de l'écrou de réglage (19) au travers de la plaque supérieure (21) de telle manière que le corps de l'écrou de réglage tourne sur la bague annulaire (20).
3 Glisser le ressort (33), le tube interne de l'adaptateur (30) et le tube externe de l'adaptateur (31) sur la plaque de l'adaptateur (34).
4 Fixer le tube externe de l'adaptateur (31) à la plaque de l'adaptateur (34) à l'aide des vis (32).
5 Glisser le système d'étanchéité (27) sur le tube de l'adaptateur (31).
6 Visser la plaque supérieure (19-23) en sens inverse des aiguilles d'une montre 5 cm vers le bas sur le tube externe de l'adaptateur (31).
7 Tourner la molette de réglage (17) dans le sens des aiguilles d'une montre au-dessus de l'adaptateur jusqu'à ce que les trous du tube de réglage interne (30) soient au même niveau que les trous du tube externe de l'adaptateur (31).
8 Serrer à la main les vis (26) vers le bas dans la moitié supérieure du système d'étanchéité (27), en veillant à ce qu'elles restent de niveau et soient correctement alignées avec les trous, jusqu'à ce que 1 à 2 mm du filetage des vis soit apparent. Enfin, serrer les vis avec une clé annulaire.
9 Monter le butoir (25) sur la plaque (21) à l'aide des vis (24).
10 Monter le joint torique de l'adaptateur (28/29) sur la plaque de l'adaptateur (34).
11 Humecter le tamis de filtration (36) avec de l'éthanol à 20 %. Monter le tamis de soutien (35) et le tamis de filtration (36) sur la plaque de l'adaptateur (34). Il peut être utile de chauffer le tamis de filtration dans l'eau pour en faciliter le montage sur l'adaptateur.

Cela termine la procédure de montage de l'adaptateur.

Montage d'une réhausse (système de compactage [package])

La réhausse est livrée montée. Le démontage ou le montage de la réhausse se font de la même manière que pour la colonne, à l'exception des directives concernant le support.

Pour monter une réhausse sur une colonne BPG 100, 140 ou 200, procéder comme suit :

1 Retirer l'adaptateur de la colonne et placer la réhausse sur la bride supérieure (10) de telle sorte que les tiges de la colonne s'ajustent dans les trous percés dans la bride de la réhausse (voir figure 4-3 ci-dessous). S'assurer que le joint torique est correctement positionné dans la bride.

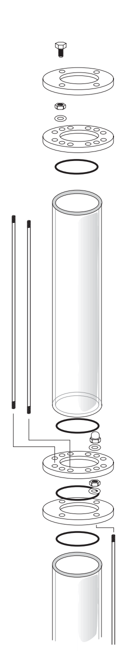


Fig 3-3. Emplacement des composants du système de compactage (package).

2 Utiliser les rondelles et les écrous à calotte sphérique du couvercle (adaptateur) de la colonne pour fixer la réhausse à la colonne.

La colonne ainsi allongée est à présent prête pour la première étape du compactage (package) pour les procédures de compactage (package) en deux étapes. Les boulons et les rondelles livrés avec la réhausse servent à monter l'adaptateur sur la réhausse.

Remarque : *Ne pas compacter (packer) la colonne avec des hauteurs de gel supérieures à la longueur de la colonne, c'est-à-dire que l'adaptateur doit se fermer hermétiquement contre la paroi de la colonne et NON contre la paroi de la réhausse. Un tube d'une longueur de 10 cm est nécessaire lors de l'installation de l'adaptateur sur le tube de la colonne si l'on démonte la réhausse de compactage (package).*

3.1.2 BPG 300

Démontage de la colonne

Pour le démontage de la colonne BPG 300, se reporter au tableau A-2 et aux figures A-3 et A-4 à la fin du présent manuel et procéder comme suit :

1 Desserrer l'un des écrous (4) du collier de la plaque supérieure (1) qui fixe l'adaptateur à la bride (5) et retirer le collier.



AVERTISSEMENT ! Si le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur est sec, il risque d'être endommagé par le mouvement forcé de l'adaptateur. Humecter le joint torique avec de l'eau ou une solution à 20 % d'éthanol. NE PAS graisser le joint torique.

2 Dévisser de quelques tours l'ajusteur du joint d'étanchéité (23), juste assez pour libérer le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur (33/34). Retirer l'adaptateur en veillant à ce que l'acier inoxydable ne vienne pas en contact avec le verre.

3 Au moyen d'une clé et dans l'ordre illustré à la figure 4-4, retirer les écrous (2) et les rondelles à ressort (3) qui fixent les tiges de soutien (8) à la bride (5).

Attention ! Ne pas dévisser complètement chaque écrou en une seule fois. Desserrer les écrous petite à petit dans l'ordre illustré à la figure 4-4. Trois à quatre tours par écrou suffisent à dévisser et à retirer correctement les écrous. Il est nécessaire de placer une clé à molette sur les parties aplaties des tiges pour éviter que celles-ci ne se dévissent.

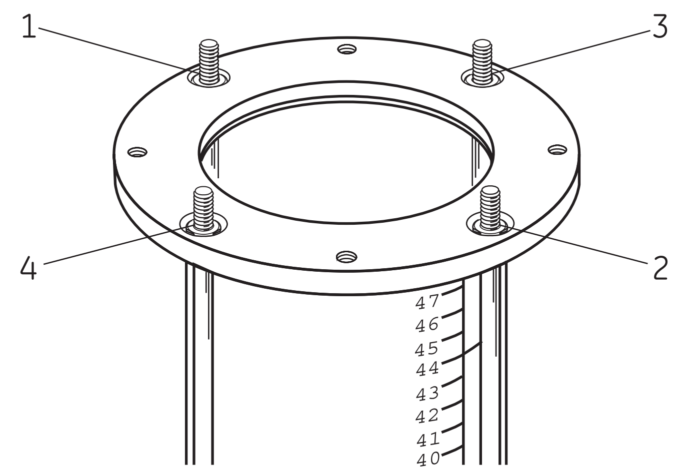


Fig 3-4. Ordre de démontage et de serrage des écrous.

Attention ! Lorsque l'on retire la bride, rien ne soutient le tube de la colonne. Veiller à éviter que le tube de la colonne ne bascule.

4 Retirer avec précaution la bride (5).

5 Avec une clé à molette, dévisser les tiges de soutien (8) de la pièce terminale (14).

6 Soulever le tube en verre (9). Déposer avec précaution le tube en verre à un endroit sûr. Si le joint torique adhère au tube en verre ou à la pièce terminale, humecter le joint torique avec de l'éthanol à 20 % avant de le retirer.

7 À l'aide d'une clé annulaire, retirer les boulons (21) et les rondelles (20) qui fixent la pièce terminale (14) au support (19). Séparer la pièce terminale du support.

Montage de la colonne

Pour le montage de la colonne BPG, 300 se reporter à la figure A-4 et procéder comme suit :

Remarque : *Humecter le tamis avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer l'air piégé.*

1 En se reportant à la figure 4-5, contrôler que les éléments suivants sont correctement positionnés dans la pièce terminale (14) :

- plaque de distribution (13 ; la face profilée doit se trouver face à la pièce terminale et la face plane face au tamis de soutien) ;
- tamis de soutien (12) ;
- tamis (10/11) ;
- joint torique (6/7).

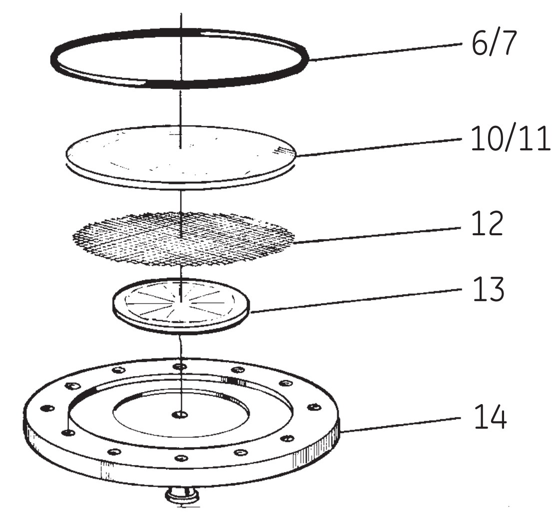


Fig 3-5. Emplacement des composants de la pièce terminale des colonnes BPG 300.

2 Fixer la pièce terminale (14) au support (19) à l'aide des boulons (21) et des rondelles (20).

3 Positionner avec précaution le tube en verre (9) sur le joint torique (6/7) de la pièce terminale (14). Vérifier que le tube en verre n'est en contact avec aucune pièce en acier inoxydable. Aligner le tube en verre avec le tamis de filtration inférieur (10/11).

4 Visser les tiges de soutien (8) dans la pièce terminale (14).

5 Positionner la bride (5) de telle sorte que les tiges de soutien (8) viennent se placer dans les trous correspondants. S'assurer que le joint torique (6/7) de la bride est aligné avec le tube en verre. Le tube en verre ne peut être en contact avec aucune pièce en acier inoxydable : sans cela, le tube en verre risque de casser.

6 Aligner la surface interne du tube en verre avec la surface interne de la bride.



AVERTISSEMENT ! Le tube en verre risque de casser si l'on applique une pression excessive lors du serrage des quatre écrous sur les tiges de soutien (tiges qui fixent la bride et la pièce terminale à la colonne en verre). Toujours utiliser une clé dynamométrique pour serrer ces écrous. Se reporter au tableau 4-2 pour les réglages de la clé dynamométrique.

7 Placer les rondelles à ressort (3) et les écrous (2) sur les tiges de soutien (8) et les serrer à la main.

8 Régler la clé dynamométrique comme indiqué au tableau 4-2 ci-dessous et serrer les écrous (2) dans l'ordre indiqué à la figure 4-4. Serrer les écrous petit à petit pour éviter toute pression mécanique inégale sur le tube en verre. Trois à quatre tours par écrou sont l'amplitude recommandée.

Tableau 3-2. Réglages de la clé dynamométrique pour les colonnes BPG 300.

Élément (se reporter à la figure A-4 pour l'emplacement)	Réglage de la clé dynamométrique
Écrous de la tige (2)	6 Nm
Écrous du collier de la plaque supérieure (4)	6,5 Nm

La colonne est à présent prête à être utilisée et l'adaptateur peut être inséré.

Démontage de l'adaptateur

Pour le démontage de l'adaptateur des colonnes BPG 300, se reporter à la figure A-3 et procéder comme suit :

1 Localiser la petite encoche à la base de l'anneau du tamis de filtration. Retirer le tamis de filtration (41/42) en faisant tourner une spatule ou une autre lame en acier inoxydable à extrémité émoussée similaire dans l'encoche. Retirer le tamis de soutien (40).

2 Retirer la vis d'arrêt (28) et l'écrou de fixation (27) de la plaque supérieure (26).

3 Libérer le système d'étanchéité (30) et le tube interne de l'adaptateur (35) en dévissant les boulons (31) situés sur l'anneau supérieur du système d'étanchéité.

4 Retirer avec précaution l'ajusteur du joint d'étanchéité (23) en relâchant la tension exercée sur le ressort (38) situé sous le tube interne de l'adaptateur (35).

5 Retirer la plaque supérieure (24 à 26, 29 et 32) et la séparer du tube externe de l'adaptateur (36) en la tournant dans le sens des aiguilles d'une montre.
6 Retirer le système d'étanchéité (30) et le joint torique de l'adaptateur (33/34).
7 Démonter le tube externe de l'adaptateur (36), le tube interne de l'adaptateur (35) et le ressort (38) en retirant les vis (37).
8 La plaque supérieure (24–26) peut être démontée en retirant les vis (32).

Cela termine la procédure de démontage de l'adaptateur.

Montage de l'adaptateur

Pour le montage de l'adaptateur des colonnes BPG 300, se reporter à la figure A-3 et procéder comme suit :

1 Positionner la bague annulaire (25) dans l'encoche de la plaque supérieure (26).
2 À l'aide des vis (32), fixer la douille de l'écrou de réglage (29) au corps de l'ajusteur de la hauteur de l'adaptateur (24) au travers de la plaque supérieure (21) de telle manière que l'ajusteur de la hauteur de l'adaptateur tourne sur les bagues annulaires (25).
3 Glisser le ressort (38), le tube interne de l'adaptateur (35) et le tube externe de l'adaptateur (36) sur la plaque de l'adaptateur (39).
4 Fixer le tube externe de l'adaptateur (36) à la plaque de l'adaptateur (39) à l'aide des vis (37).
5 Glisser le système d'étanchéité (30) sur le tube externe de l'adaptateur (36).
6 Visser la plaque supérieure (24 à 26, 29 et 32) en sens inverse des aiguilles d'une montre environ 5 cm vers le bas sur le tube externe de l'adaptateur (36).
7 Tourner la molette de réglage (23) dans le sens des aiguilles d'une montre au-dessus de l'adaptateur jusqu'à ce que les trous du tube interne de l'adaptateur (35) soient au même niveau que les trous du tube externe de l'adaptateur (36).
8 Serrer à la main les vis (31) dans la moitié supérieure du système d'étanchéité (30), en veillant à ce qu'elles restent de niveau et soient correctement alignées avec les trous, jusqu'à ce que 1 à 2 mm du filetage des vis soit apparent. Enfin, serrer les vis avec une clé annulaire.
9 Placer la vis d'arrêt (28) et l'écrou de fixation (27) dans la plaque supérieure (26). Tourner la vis d'arrêt jusqu'à ce qu'elle s'engage dans la rainure de tube externe de l'adaptateur (36), de manière à empêcher tout déplacement latéral du tube sans entraver son déplacement vertical. Fixer la vis d'arrêt (28) en place à l'aide de l'écrou de fixation (27).
10 Monter le joint torique de l'adaptateur (33/34) sur la plaque de l'adaptateur (39).
11 Humecter le tamis de filtration (41/42) avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer toutes les bulles d'air piégées dans le tamis de filtration. Si le tamis de filtration est raide, le chauffer dans de l'eau à 40°C.
12 Monter la plaque de distribution (13), le tamis de soutien (40) et le tamis de filtration (41/42) sur la plaque de l'adaptateur (39).

Cela termine la procédure de montage de l'adaptateur du BPG 300.

Montage d'une réhausse (système de compactage [package])
La réhausse est livrée montée. Le démontage ou le montage de la réhausse se font de la même manière que pour la colonne, à l'exception des directives concernant le support.

Pour le montage d'une réhausse sur la colonne BPG 300, se reporter à la figure A-4 et procéder comme suit :

1 Retirer l'adaptateur de la colonne et placer la réhausse sur la bride supérieure (5). S'assurer que le joint torique est correctement positionné dans la bride.
2 Utiliser le collier de la plaque supérieure pour fixer la réhausse à la colonne.

La colonne ainsi allongée est à présent prête pour la première étape du compactage (package) pour les procédures de compactage (package) en deux étapes. Le collier supplémentaire livré avec la réhausse sert à monter l'adaptateur sur la réhausse.

Remarque : *Ne pas compacter (packer) la colonne avec des hauteurs de gel supérieures à la longueur de la colonne, c'est-à-dire que l'adaptateur doit se fermer hermétiquement contre la paroi de la colonne et NON contre la paroi de la réhausse. Un tube d'une longueur de 10 cm est nécessaire lors de l'installation de l'adaptateur sur le tube de la colonne si l'on démonte la réhausse de compactage (package).*

3.1.3 BPG 450

Démontage de la colonne
Pour le démontage de la colonne BPG 450, se reporter au tableau A-3 et à la figure A-5 à la fin du présent manuel et procéder comme suit :

1 Libérer le joint de l'adaptateur en tournant la poignée (24).



AVERTISSEMENT ! Si le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur est sec, il risque d'être endommagé par le mouvement forcé de l'adaptateur. Humecter le joint torique avec de l'eau ou une solution à 20 % d'éthanol. NE PAS graisser le joint torique.

2 Déplacer l'adaptateur de quelques millimètres vers le bas afin de libérer le joint torique de la paroi de verre. Le déplacer ensuite le plus loin possible vers le haut.
3 Retirer les boulons (26) et les rondelles (27). Libérer le couvercle (17) et sortir l'adaptateur.

Remarque : *L'adaptateur des colonnes BPG 450 est lourd. Pour des raisons de sécurité, il est conseillé de soulever l'adaptateur à l'aide d'un treuil fixé aux boulons à oeil du couvercle de la colonne.*

1 Desserrer les boulons (44) pour séparer le tube de la colonne (12) [avec les brides (3)] de la pièce terminale (1). Soulever avec précaution le tube de la colonne. Si le joint torique adhère au tube en verre ou à la pièce terminale, humecter le joint torique avec de l'éthanol à 20 % avant de le retirer.

2 Pour remplacer les joints toriques des brides supérieure et inférieure, desserrer les vis Allen (7) et sortir précautionneusement la bride supérieure. Retirer le tube en verre et remplacer le joint torique inférieur. Remettre en place le tube en verre et ajuster le nouveau joint torique supérieur. Enfin, ajuster la bride supérieure. Aligner le tube en verre avec les brides.

Cela termine la procédure de démontage de l'adaptateur.

Montage de la colonne

Pour le montage de la colonne BPG 450, se reporter à la figure A-5 et au tableau A-3 et procéder comme suit :

1 En se reportant à la figure 4-6 ci-après, contrôler que les éléments suivants sont correctement positionnés dans la pièce terminale :

- plaque de distribution (41) ;
- bouchon à encliquer (36) ;
- tamis de soutien (2) ;
- tamis de filtration (5) ;
- joint d'étanchéité en U (4 ; monté sur le tamis de filtration).

Remarque : *Humecter le tamis avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer l'air piégé.*

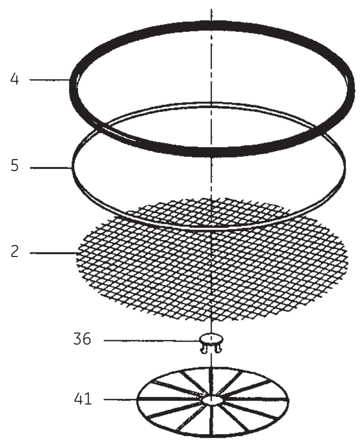


Fig 3-6. Emplacement des composants de la pièce terminale des colonnes BPG 450.

2 Placer avec précaution le tube de la colonne (12) sur le joint d'étanchéité en U (4). Contrôler que la bride (3) est centrée par rapport au joint d'étanchéité en U.

3 Fixer le tube à la pièce terminale avec les boulons (44). Serrer les boulons en diagonale à l'aide de la clé dynamométrique réglée sur 8 Nm. Chaque boulon doit être serré en trois fois.



AVERTISSEMENT ! Le tube de la colonne risque de casser si l'on exerce une pression excessive lors du serrage des boulons qui fixent la bride (3) et les tiges (8) au tube de la colonne. Toujours utiliser une clé dynamométrique pour le serrage de ces boulons. Voir le tableau 4-3 ci-dessous pour les réglages de la clé dynamométrique pour la colonne BPG 450.

Tableau 3-3. Réglages de la clé dynamométrique pour les colonnes BPG 450.

Élément (se reporter à la figure A-5 pour l'emplacement)	**Réglage de la clé dynamométrique**
Couvercle et boulons de la pièce terminale (26 et 27)	8 Nm
Tube en verre vers brides (3) et tiges (8)	4 Nm

Démontage de l'adaptateur [pour remplacer le joint torique (32)]

Pour remplacer le joint torique des colonnes BPG 450, se reporter au tableau A-3 et à la figure A-5 et procéder comme suit (voir également les réglages de la clé dynamométrique au tableau 4-3):

1 Retirer les boulons des vis de l'adaptateur (39).

2 Retirer le couvercle (17) et les vis de l'adaptateur (29). Veiller à ne pas plier le tube d'entrée (31).

3 Retirer le ressort (34).

4 Retirer les vis (33) qui maintiennent le tube d'entrée.

5 Retirer le joint torique usagé (32) et le jeter.

Cela termine le démontage de l'adaptateur.

Montage de l'adaptateur

1 Placer le nouveau joint torique lubrifié (éthanol à 20 %) (32) entre le tube d'entrée (31) et l'adaptateur (38). Serrer les vis Allen (33).

2 Glisser le ressort (34) sur le tube d'entrée.

3 Faire descendre avec précaution la vis de l'adaptateur (29) et le couvercle (17) le long du tube d'entrée.

4 Visser les boulons (39) à l'intérieur de l'adaptateur et les serrer.

L'adaptateur est à présent remonté.

Montage d'une réhausse (système de compactage [package])
Le système de compactage (package) de la colonne BPG 450 est une réhausse en acier inoxydable.

Pour le montage d'une réhausse sur la colonne BPG 450, procéder comme suit :

1 Retirer l'adaptateur de la colonne et placer la réhausse en acier inoxydable sur la bride supérieure. S'assurer que le joint torique est correctement positionné dans la bride.
2 Utiliser les boulons livrés avec la réhausse pour fixer la réhausse à la colonne.

La colonne ainsi allongée est à présent prête pour la première étape du compactage (package) pour les procédures de compactage (package) en deux étapes.

Remarque : *Retirer la réhausse après l'étape de sédimentation initiale. Insérer l'adaptateur et poursuivre le compactage (package). Un tube d'une longueur de 15 cm est nécessaire lors de l'installation de l'adaptateur sur le tube de la colonne si l'on démonte la réhausse de compactage (package).*

3.2 Raccordements

Plusieurs connecteurs différents sont disponibles pour raccorder les colonnes BPG aux différents types de tuyaux et de systèmes (voir le chapitre 3 du guide d'entretien des colonnes BPG).

Les raccords sanitaires à collier hygiéniques des colonnes BPG permettent le nettoyage en place. Les autres connecteurs sont en polypropylène et dotés d'une bonne résistance aux produits chimiques. Le diamètre extérieur de tous les raccords à collier BPG est de 25 mm. Un collier de 51 mm est utilisé avec les kits de manomètre et la vanne de sécurité.

3.3 Mise à la terre de la colonne

Pour éviter les décharges d'électricité statique, la colonne peut être mise à la terre.

Remarque : *Le raccordement à la terre est obligatoire si l'équipement est destiné à être utilisé sous une atmosphère potentiellement explosive.*

Pour cela, un kit de mise à la terre adapté est proposé en option et un terminal de raccordement à la terre est prévu sur le support de la colonne comme illustré ci-dessous.

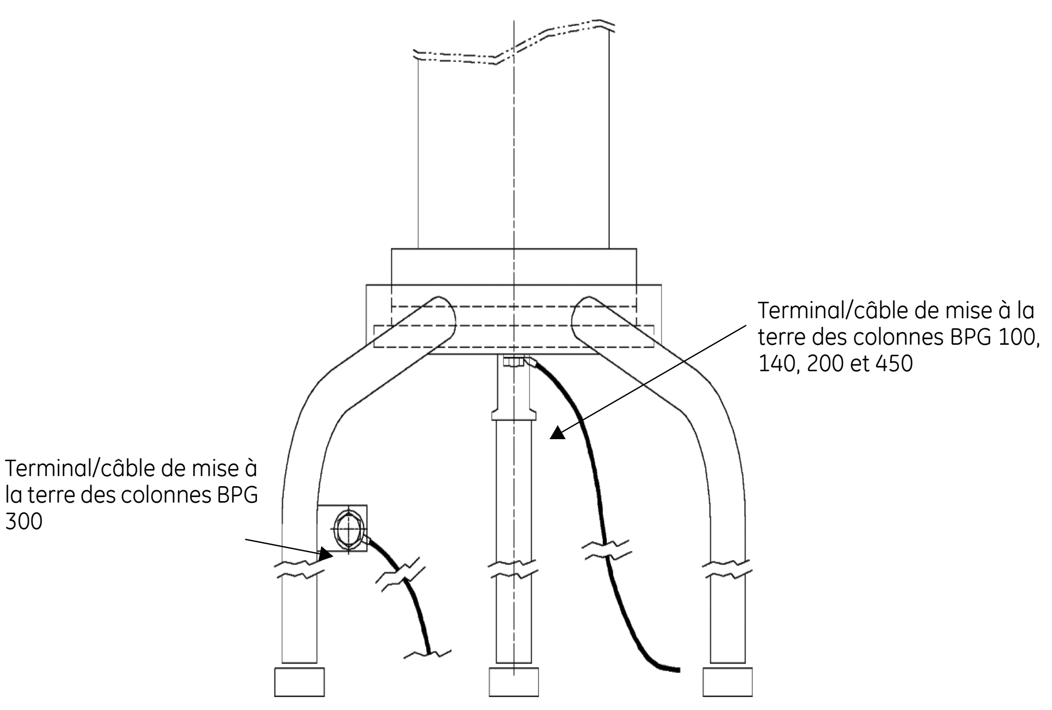


Fig 3-7. Terminal de terre de la colonne sur le support de la colonne.

Pour raccorder la colonne à la terre, raccorder l'une des extrémités du câble de mise à la terre à un terminal de terre du réseau de mise à la terre de l'usine et l'autre extrémité au terminal de terre de la colonne situé sur le support. Le terminal de terre de la colonne est doté d'un filet M6.

3.4 Test des fuites

Avant d'abaisser l'adaptateur, vérifier que le joint torique est mouillé. Utiliser par exemple une solution à 20% d'éthanol. Test des fuites au niveau de l'adaptateur :

1. Remplir la colonne d'eau ou de solution de décontamination, puis positionner l'adaptateur dans la colonne à la hauteur à laquelle on compte utiliser la colonne.
2. Fermer hermétiquement l'adaptateur avec l'ajusteur de joint d'étanchéité.
3. Éliminer l'air présent dans la colonne.

4 Fermer la vanne de sortie de la colonne.

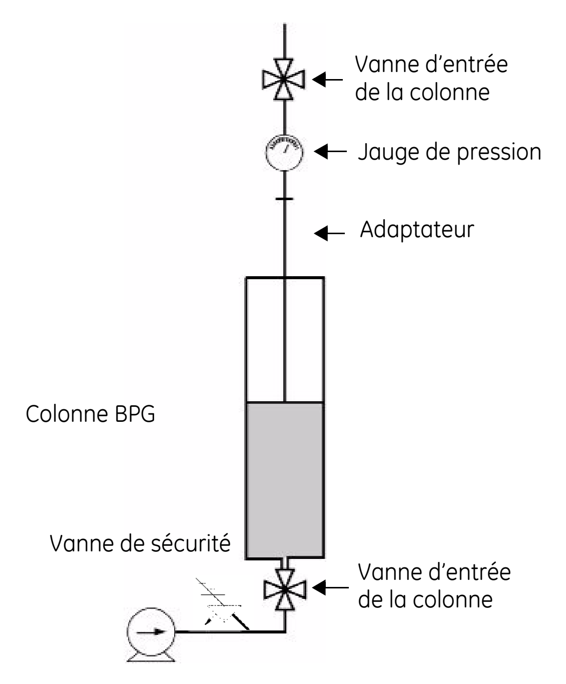


Fig 3-8. Disposition schématique de la colonne, des vannes et de la pompe pour le test des fuites au niveau.

5 Augmenter la pression jusqu'à la pression maximale de fonctionnement.

6 Attendre environ 15 minutes jusqu'à ce que la pression soit stabilisée.

7 Contrôler la perte de pression sur la jauge de pression. La perte de pression ne peut pas dépasser 0,1 bar en 5 minutes. Un enregistreur relié à un contrôleur de pression permet d'obtenir des chiffres plus précis.

Cela termine le test des fuites.

4 La colonne BPG

Ce chapitre propose un aperçu général des spécifications et caractéristiques des colonnes BPG.

4.1 Spécifications et caractéristiques

Tableau 4-1. Principales spécifications et caractéristiques des colonnes BPG.

Diamètre de la colonne (mm)	**Aire de section (cm^2)**	**Hauteur de tube (cm)**	**Hauteur de gel[1,3] (cm)**				**Volume de gel [1,3] (litre)**				**Pression max (bar g)**	**Poids total (kg)**	**Poids de l'adaptateur (kg)**	**Dimensions totales (cm) PxlxH**
			Min	**(1)**	**(2)**	**(3)**	**Min**	**(1)**	**(2)**	**(3)**	**(4)**			
100	78,5	50	0	26	34	45	0,0	2,0	2,7	3,5	8	15	7	48x48x127
100	78,5	75	25	41	55	65	2,0	3,2	4,3	5,1	8	16	7	48x48x152
100	78,5	95	45	54	72	78	3,5	4,2	5,7	6,1	8	17	7	48x48x172
140	154	50	0	26	34	45	0,0	4,0	5,2	6,9	6	25	11	59x59x127
140	154	75	25	41	55	65	3,9	6,3	8,5	10,0	6	26	11	59x59x152
140	154	95	45	54	72	78	6,9	8,3	11,1	12,0	6	27	11	59x59x172
200	314	50	0	26	34	45	0,0	8,2	10,7	14,1	6	34	13	59x59x127
200	314	75	25	41	55	65	7,8	12,9	17,3	20,4	6	36	13	59x59x152
200	314	95	45	54	72	78	14,1	17,0	22,6	24,5	6	39	13	59x59x172
296	688	50	0	26	34	45	0,0	17,9	23,4	31,0	4	68	29	69x69x133
296	688	75	25	41	55	65	17,2	28,2	37,8	44,7	4	73	29	69x69x158
296	688	95	45	54	72	78	31,0	37,2	49,5	53,7	4	78	29	69x69x178
446	1562	50	11	22	30	45	17,2	34,4	46,9	70,3	2,5	200	100	80x80x140
446	1562	75	36	38	51	62	56,2	59,4	79,7	96,8	2,5	215	100	80x80x165
446	1562	100	61	64	72	78	95,3	100,0	112,5	121,8	2,5	230	100	80x80x190

1 Les volumes de gel et les hauteurs de gel sont basés sur une concentration de la suspension de 75 % et une compression de compactage (package) de 15 %.
La compression est la différence de volume entre un gel sédimenté et un gel sous pression.

1 Ces chiffres sont obtenu sans utiliser de tube supplémentaire

2 Les hauteurs et les volumes de gel peuvent être obtenus avec un système de compactage (package) supplémentaire au cours de la solidification du gel (sédimentation)
La quantité totale de suspension de 75% doit pouvoir être contenue dans la colonne lorsque le tube suplémentaire et l'adaptateur sont en place.

3 La hauteur et le volume de gel peuvent être obtenus avec le tube de compactage supplémentaire en place pendant l'étape de compactage finale.
L'adaptateur fermer hermétiquement le tube de la colonne sur au moins 5 cm afin de prévenir les fortes contraintes sur le tube en verre

4 Utiliser un manomètre pour contrôler la pression (pour la commande, voir chapitre 3 du guide d'entretien BPG).

La température de fonctionnement des colonnes BPG est de 4°C à +40°C.

Tableau 4-2. Dimensions des entrées et sorties des colonnes BPG.

	Taille de la colonne				
	100	**140**	**200**	**300**	**450**
Dimensions E/S, mm	4	6	6	10	12

4.2 Matériaux constitutifs de la colonne

Les matériaux utilisés dans la construction des colonnes BPG ont été soigneusement sélectionnés pour leur compatibilité avec les solvants les plus couramment utilisés au cours des étapes de purification chromatographique, pour la maintenance des colonnes et lors des procédures de nettoyage. Tous les matériaux polymères mis en oeuvre au cours du processus sont conformes aux exigences de la norme USP classe VI décrites dans le document «Biological Reactivity Tests, In Vivo» (Tests de réactivité biologique, in vivo).

Les composants des colonnes peuvent être considérés comme contenant des parties humides, susceptibles de se trouver en contact avec les liquides utilisés, et des parties sèches. Tous les matériaux de construction sont des matériaux de qualité supérieure qui répondent aux exigences d'un environnement de production industriel. Les tableaux A-1, A-2 et A-3 de l'annexe illustrent les composants des colonnes et identifient les matériaux de fabrication des parties humides et sèches de chacun des composants.

4.3 Résistance aux produits chimiques

Le tableau 3-3 est destiné à servir de guide pour connaître la résistance vis-à-vis des solvants des matériaux utilisés dans les colonnes BPG. Ces informations ont été réunies à partir de documents publiés en provenance de différentes sources et ne proviennent pas de tests individuels effectués sur les composants de la colonne. L'opérateur doit par conséquent considérer cette liste uniquement comme un guide indicatif du niveau de résistance aux produits chimiques de chacun des matériaux. On notera que les effets d'un produit chimique sont plus sévères à des températures et sous des pressions plus élevées et que les effets combinés n'ont pas été pris en considération.

En général, l'utilisation des produits chimiques suivants dans les colonnes BPG doit être évitée :

- oxydants puissants (par exemple peroxydes) ;
- composés halogénés ;
- solvants chlorés (par exemple le chlorure de méthylène) ;
- esters (par exemple acétates) ;
- hydrocarbures aromatiques (par exemple toluène) ;
- acides forts à fortes concentrations ;
- chloroforme ;
- THF ;
- toluène ;
- chlorure de méthylène.

Remarque : *Éviter les combinaisons de sels avec un pH inférieur à 4. Toujours laver la colonne avec au moins deux fois le volumes de la colonne d'une solu-tion à pH neutre entre les utilisations de sels et de tampons à pH bas.*

Tableau 4-3. Résistance aux produits chimiques des matériaux constitutifs des colonnes BPG

Substance	Concentration par unité de volume	60–90 jours[1]
Acétate d'éthyle	100 %	voir remarque 4
Acétone	10 %	OK
Acétonitrile	5 %	voir remarque 2
Acétonitrile	50 %	voir remarques 3, 4
Acide acétique	10 %	voir remarque 7
Acide acétique	25 %	voir remarque 7
Acide chlorhydrique	0,1 M	voir remarques 6, 7
Acide nitrique	0,1 M	voir remarque 7
Acide trifluoroacétique	0,1 %	voir remarques 7, 8
Alcool isopropylique	100 %	voir remarque 2
Chlorure de sodium	2 M	voir remarque 5
Cyclohexane	100 %	voir remarques 3, 4
Ethanol	100 %	voir remarque 2
Ethylène glycol	50 %	OK
Glycérol	100 %	OK
Hexane	100 %	voir remarques 2, 7
Hydroxyde de sodium	2 M	OK
Méthanol	100 %	OK
n-Propanol	100 %	OK
Triton® X-100	100 %	OK
Tween/Phosphate de tri-n-butyle	1 % / 0,3 %	OK
Urée	8 M	OK

1 Le test n'inclut pas le tuyau en PVC.
2 Le caoutchouc EPDM modifie les caractéristiques. Pour une utilisation répétitive et à long terme, utiliser des joints toriques et des joints d'étanchéité en FEP/PFR/PTFE.
3 Remplacer les joints toriques et les joints d'étanchéité par des modèles en FEP/PFR/PTFE.
4 La résistance de polypropylène est assez bonne.
5 Peut être utilisé sous des conditions de fonctionnement normales. Ne pas utiliser de NaCl dans les solutions de stockage. Garder à l'esprit que le NaCl peut engendrer une corrosion de l'acier inoxydable dans des solutions acides (pH inférieur à 4,5).
6 Pas plus de 4 heures.
7 Utilisation déconseillé avec les tamis en PA.
8 Le FEP modifie les caractéristiques. Donc, utiliser de caoutchouc EPDM.

4.3.1 Résistance chimique au chlorure de sodium

Les colonnes BPG sont dotées de composants mouillés en acier inoxydable et doivent donc être correctement entretenues lorsqu'elles sont exposées au chlorure de sodium au cours des processus chromatographiques. Si un processus implique l'utilisation de solutions de chlorure de sodium, la colonne doit être parfaitement rincée afin d'en retirer tout résidu potentiel de chlorure de sodium. Rincer la colonne en la remplissant au moins cinq fois d'eau. L'eau est la solution de rinçage privilégiée en raison des propriétés de solubilité du chlorure de sodium dans l'eau, que l'on ne retrouve pas avec d'autres solutions de rinçages comme l'éthanol.

Le protocole de rinçage doit utiliser au moins cinq volumes de colonne d'eau déminéralisée afin de garantir une élimination optimale des ions chlorures résiduels, potentiellement corrosifs pour l'acier inoxydable dans le temps.

La conception de la colonne BPG permet de placer le tampon sur le dessus de l'adaptateur au moment du conditionnement. Une fois le conditionnement effectué et le joint torique scellé, il est essentiel que toute trace de tampon comprenant des ions chlorure soit éliminée de cet espace afin de prévenir la corrosion dans le temps.

4.4 Courbes de pression/débit

En général, les courbes de pression/débit théoriques sont extrêmement difficiles à déterminer. Les courbes de pression/débit les plus précises sont celles obtenues par des méthodes expérimentales. La figure 3-1 ci-dessous montre la configuration classiquement utilisée dans les laboratoires GE Healthcare pour générer des courbes de pression/débit.

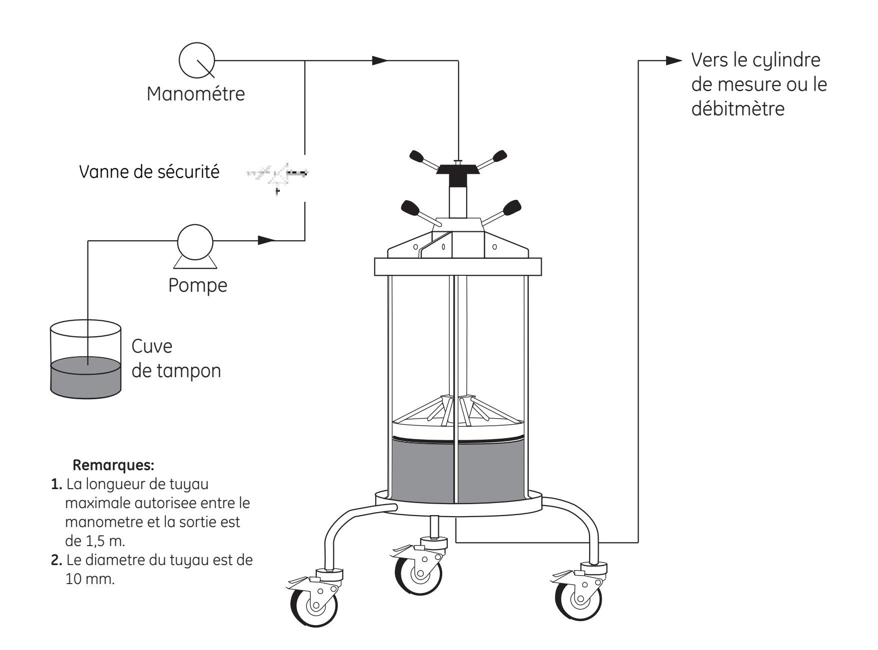


Fig 4-1. Configuration classique pour la détermination des courbes de pression/débit. ***Remarque* :** La colonne contient uniquement du tampon. La décharge doit se trouver au même niveau que le manomètre.

4.4.1 Courbes de pression/débit des colonnes vides

Les figures 3-2 et 3-3 illustrent les courbes de pression/débit pour les colonnes BPG vides, obtenues par la méthode décrite à la section 5.1.3 de ce manuel et avec la configuration illustrée plus haut.

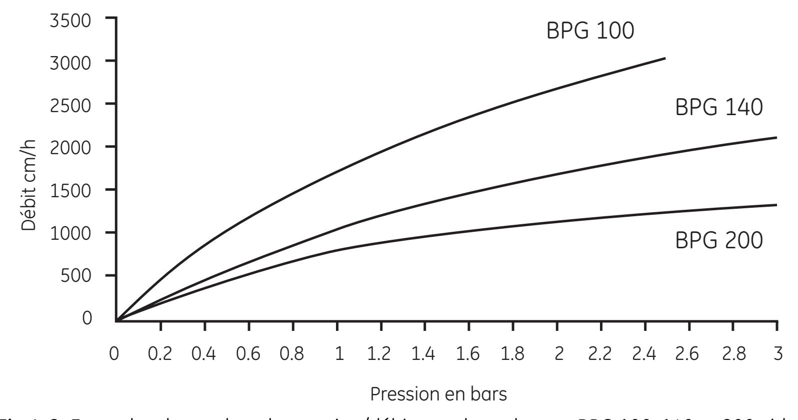


Fig 4-2. Exemples de courbes de pression/débit pour les colonnes BPG 100, 140 et 200 vides.

4.4 Courbes de pression/débit

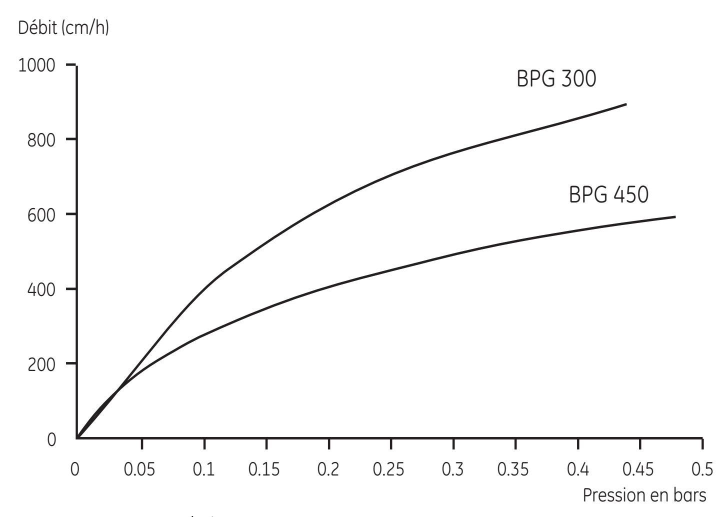


Fig 4-3. Courbes de pression/débit pour les colonnes BPG 300 et 450 vides.

4.4.2 Courbes de pression/débit des colonnes compactées (packées)

Les figures 3-4 à 3-6 illustrent les courbes de pression/débit pour les colonnes BPG compactées (packées), obtenues par la méthode décrite à la section 5.1.5 de ce manuel et avec la configuration illustrée à la figure 3-1.

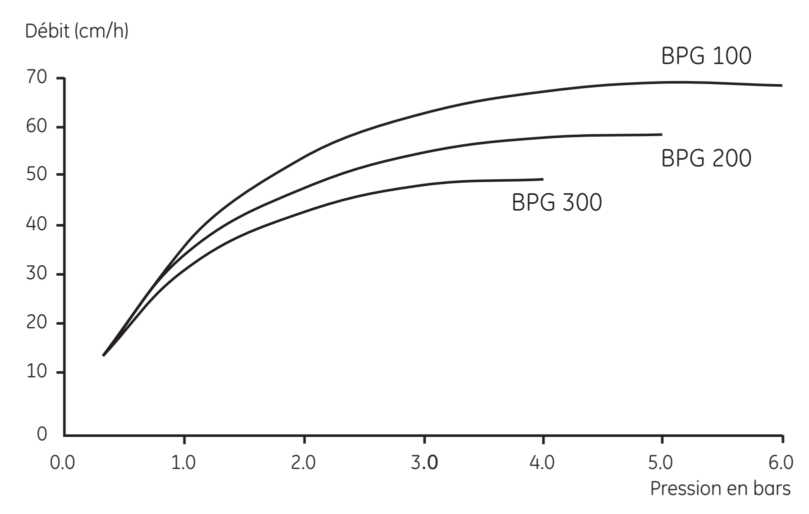


Fig 4-4. Courbe de pression/débit pour le support Superdex 200 de qualité préparative dans des colonnes BPG. Hauteur de gel 60 cm.

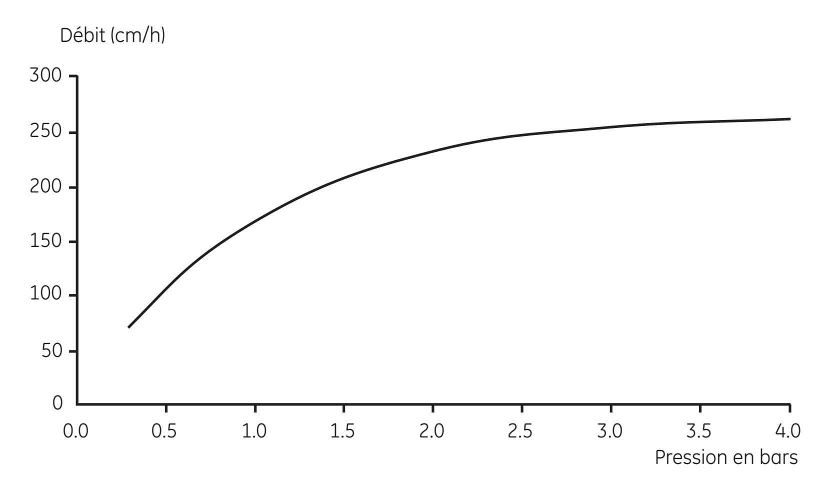


Fig 4-5. Courbe de pression/débit pour le support Q Sepharose High Performance dans des colonnes BPG 300/500. Hauteur de gel 10 cm.

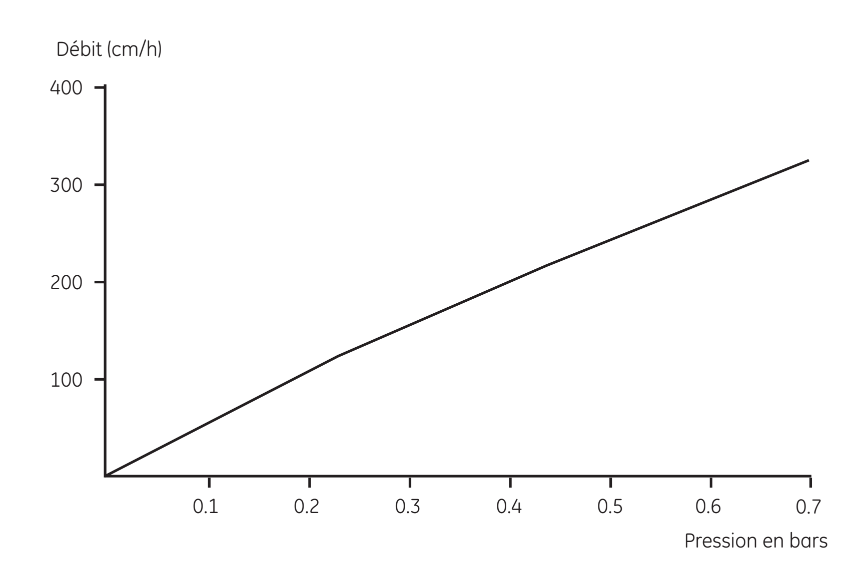


Fig 4-6. Courbe de pression/débit d'une colonne BPG 450 compactée (packée) avec du gel Q Sepharose Fast Flow avec une hauteur de gel de 15 cm.

5 Fonctionnement



AVERTISSEMENT ! Manipuler la colonne avec précaution car les spécifications de pression ne sont valables que si le tube en verre est intact et exempt de rayures. Ne jamais souffler d'air ou de gaz dans la colonne.

Remarque : *Avant de compacter (packer) la colonne pour la première fois, il est conseillé de rincer la colonne et les tuyaux avec la solution de nettoyage en place, par exemple du NaOH, pour avoir l'assurance que toutes les surfaces sont propres Se reporter à la section 1.3 du guide d'entretien de la colonne BPG.*

Pour obtenir des performances optimales des colonnes BPG, nous recommandons d'utiliser les protocoles de compactage (package) de la colonne décrits aux paragraphes qui suivent. Avant d'utiliser les colonnes, il est conseillé de lire entièrement ce chapitre.

5.1 Compactage (package) de la colonne

Il existe de nombreuses méthodes de compactage (package) différentes, en fonction de la colonne et de type de support utilisé. Dans le cas des colonnes BPG, nous recommandons la méthode de compactage (package) décrite à la sous-section 5.1.5. Le débit de compactage (package) optimal dépend de la température, du type de support, du lot et de la quantité. Par conséquent, pour chaque système individuel, il est nécessaire de déterminer le débit optimal de manière empirique, en générant une courbe de pression/débit. Les méthodes recommandées sont décrites en détail aux sections 5.1.3 et 5.1.5.

5.1.1 Quantités de support requises par centimètre de hauteur de gel

Les quantités de support requises par centimètre de hauteur de gel pour les colonnes BPG sont indiquées ci-après.

Tableau 5-1. Quantités de support requises pour les colonnes BPG.

Support	Quantité de support par litre de colonne compactée (packée)	Quantité de support par centimètre de gel compacté (packé)				
		BPG 100	BPG 140	BPG 200	BPG 300	BPG 450
DEAE Sepharose Fast Flow	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
Sepharose Fast Flow	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
CM Sepharose Fast Flow	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
S Sepharose Fast Flow	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
Phenyl Sepharose Fast Flow	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
Sephadex G-25 qualités C et M	250 g	19,6 g	38,2 g	78,5 g	176 g	394 g
Sephadex G-25 SF	280 g	22,0 g	42,9 g	88,0 g	198 g	443 g
Sepharose 4 et 6 Fast Flow	1,20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1,89 l
Sephacryl High Resolution	1,25 l	98 ml	192 ml	393 ml	882 ml	1,97 l
Superdex 75 et 200 qualité préparative	1,20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1,89 l
Sepharose Q et SP High Performance	1,20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1,89 l
Phenyl Sepharose High Performance	1,20 l	94 ml	183 ml	377 ml	847 ml	1,89 l

5.1.2 Tailles de tamis recommandées

Il est important de sélectionner des tamis d'adaptateur et de pièce terminale de porosité appropriée. Les tamis sont disponibles avec des porosités de 10, 12, 23 et 54 µm. Un mauvais choix de porosité du tamis risque d'engendrer des problèmes de contre-pression ou de fuites de gel. Les tailles de tamis recommandées sont les suivantes :

Tableau 5-2. Tailles de tamis recommandées pour les colonnes BPG.

Taille de tamis (µm)	Matériau	Diamètre des billes (µm)
10	PA[1]	30 - 70
12	PEEK[2]	30 - 70
23	PP[3]	Support FF
54	PP[3]	Support BB

[1] Polyamide
[2] Polyétheréthercétone
[3] Polypropylène

5.1.3 Détermination du débit optimal de compactage (package)

Pour déterminer le débit optimal de compactage (package) pour les colonnes BPG, procéder comme suit :

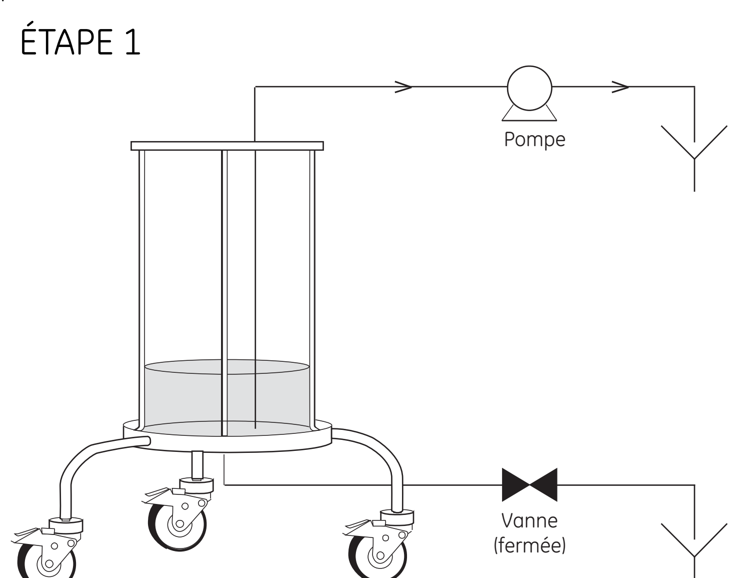


Fig 5-1. Détermination du débit optimal, étape 1.



AVERTISSEMENT ! Toujours conserver dans la mesure du possible les liquides dangereux dans des récipients fermés afin d'éviter la présence de vapeurs ou d'éclaboussures dans la zone de travail.

ÉTAPE 1

a. Humecter le tamis avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer l'air piégé.
b. Remplir la colonne avec 10 à 15 cm de tampon de compactage (package).
c. Vider les tubes pour éliminer toutes les bulles d'air.
d. Raccorder un tuyau au côté aspiration d'une pompe.
e. Démarrer la pompe, placer le tuyau sur le tamis inférieur et extraire toutes les bulles d'air qui demeurent piégées sous le tamis.

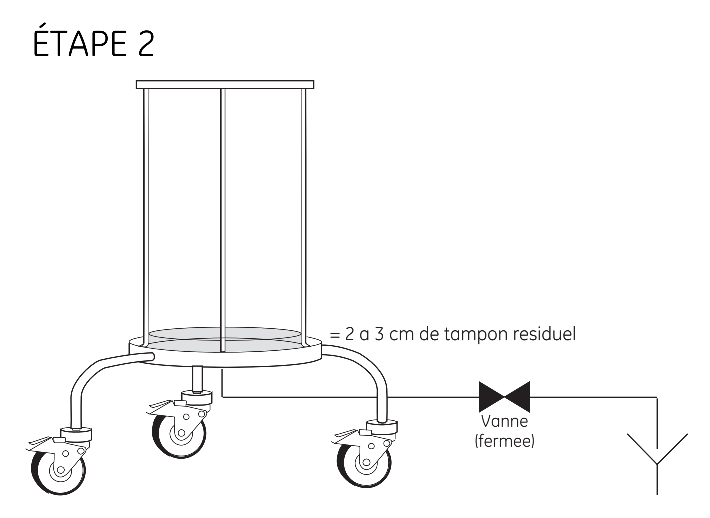


Fig 5-2. Détermination du débit optimal, étape 2.

ÉTAPE 2

a. Continuer à pomper le tampon (et l'air) jusqu'à ce qu'il ne reste plus que 2 à 3 cm de tampon dans la colonne.

b. Utiliser un niveau à bulle pour vérifier que la colonne est parfaitement horizontale. Corriger au moyen des pieds ou roulettes réglables si nécessaire.

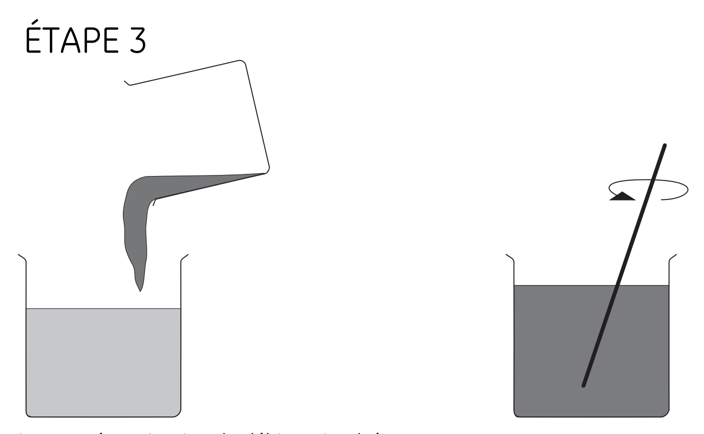


Fig 5-3. Détermination du débit optimal, étape 3.

ÉTAPE 3

a. Mélanger le tampon de compactage (package) avec le support pour donner naissance à une suspension à 75 %, c'est-à-dire volume sédimenté / volume de suspension total = 0,75.

Remarque : *Ce volume de suspension convient pour les supports BioProcess. Pour les autres supports pour chromatographie, déterminer le volume de suspension recommandé en accord avec le fournisseur.*

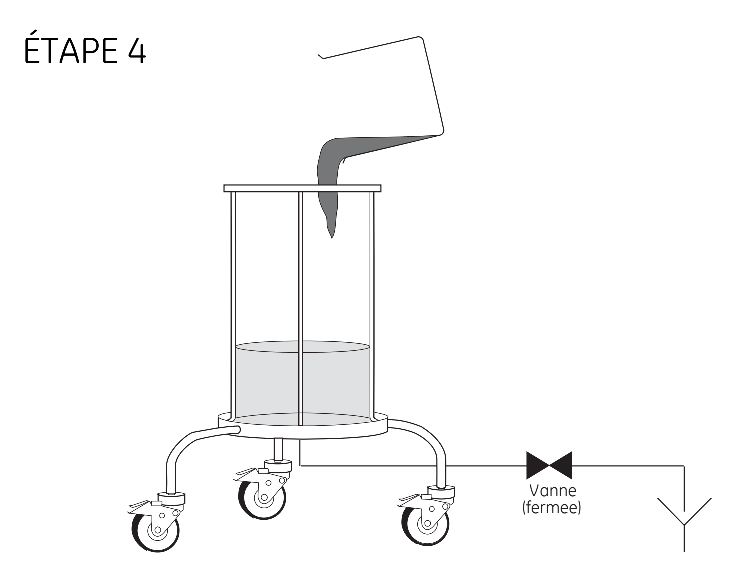


Fig 5-4. Détermination du débit optimal, étape 4.

ÉTAPE 4

a. Verser précautionneusement la suspension homogène dans la colonne. Contrôler qu'il n'y a pas de bulles d'air piégées dans la suspension.

ÉTAPE 5

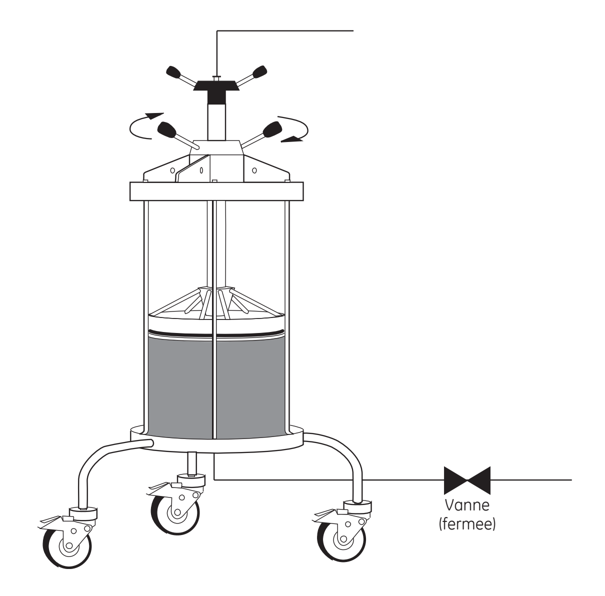


Fig 5-5. Détermination du débit optimal, étape 5.

ÉTAPE 5

Remarque : *Cette étape doit avoir lieu suffisamment rapidement pour que le support n'ait pas le temps de sédimenter entièrement*.

a. Insérer l'adaptateur.

b. Utiliser les quatre boulons (BPG 100, 140 et 200) ou le collier de adaptateur de la plaque supérieure (BPG 300 et 450) pour fixer en place l'adaptateur de la colonne.

c. Utiliser la poignée de l'ajusteur de hauteur pour positionner l'adaptateur 1 à 5 mm sous la surface supérieure du liquide.

ÉTAPE 6

Vanne
(fermee)

Fig 5-6. Détermination du débit optimal, étape 6.

ÉTAPE 6

a. Fermer hermétiquement le joint torique de l'adaptateur en tournant dans le sens des aiguilles d'une montre la molette (BPG 100, 140 et 200) ou la poignée (BPG 300 et 450) de réglage du joint d'étanchéité au-dessus de l'adaptateur.

b. Une fois que le joint torique assure une fermeture hermétique, descendre l'adaptateur en le remplissant de tampon pour expulser l'air présent dans le tube de l'adaptateur. Le tube de l'adaptateur est plein lorsque le tampon forme un ménisque et qu'il n'apparaît plus de bulles d'air.

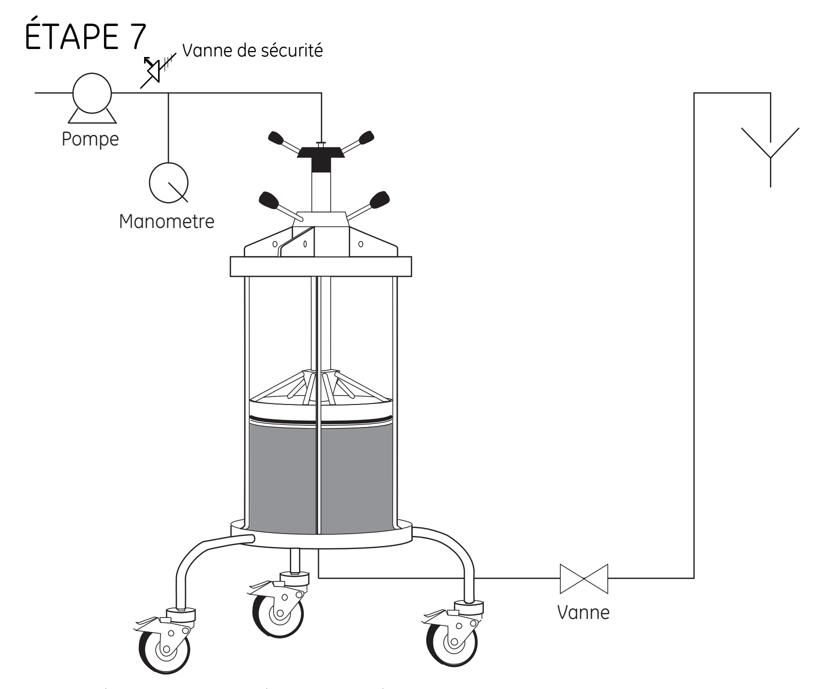


Fig 5-7. Détermination du débit optimal, étape 7.

ÉTAPE 7



AVERTISSEMENT ! Toujours utiliser une vanne de sécurité raccordée immédiatement après la pompe.

a. Démarrer la pompe et éliminer l'air qui se trouve dans le tuyau en provenance de la pompe en pompant à faible débit.

b. Tout en pompant à faible débit, raccorder un manomètre entre la pompe et la colonne, puis raccorder le tuyau au-dessus de la colonne.

c. Ouvrir la vanne inférieure.

d. Définir une courbe de pression/débit en commençant à faible débit. Le support commence à sédimenter, laissant une zone claire entre le gel et l'adaptateur. Ne PAS ajuster l'adaptateur.

e. Augmenter lentement la pression par incréments et prendre note du débit lorsque la pression s'est stabilisée. Le temps nécessaire pour que la pression se stabilise dépend du type de support et peut varier de quelques minutes à plusieurs heures.

f. Continuer à augmenter la pression jusqu'à ce que le débit ait atteint un plateau (une augmentation de pression n'accroît plus le débit). Pour certains supports sous forme de gels rigides, il n'y a pas de plateau. En pareil cas, utiliser le débit correspondant à la pression maximale autorisée pour la colonne.

g. Lorsque la pression maximale est atteinte, mettre fin à la détermination.



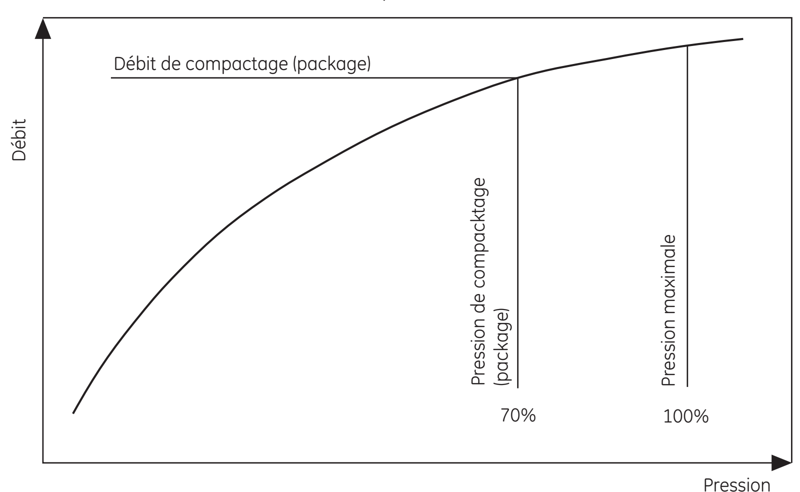


Fig 5-8. Détermination du débit optimal, étape 8.

ÉTAPE 8

a. Tracer un diagramme de la relation pression – débit, comme illustré dans l'exemple ci-dessus. Le débit de compactage (package) optimal est d'environ 70% du débit maximal. Pour certains supports particulièrement rigides, il n'y a pas de plateau ; en pareil cas, utiliser le débit correspondant à la pression maximale autorisée pour la colonne.

5.1.4 Débits de compactage (package) recommandés pour les supports GE Healthcare

Les débits de compactage (package) recommandés figurent dans les instructions qui accompagnent chaque livraison de support. Néanmoins, pour un compactage (package) optimal, il est conseillé de procéder à la détermination d'une courbe de pression/débit pour chaque lot de support, colonne ou configuration de système de la manière décrite à la section 5.1.3.

5.1.5 Méthode de compactage (package) de la colonne

Cette méthode de compactage (package) peut être utilisée avec les supports BioProcess et est basée sur l'application d'un débit constant au travers de la colonne. Pour préparer la procédure de compactage (package) de la colonne, procéder comme suit :



AVERTISSEMENT ! Toujours utiliser une vanne de sécurité raccordée immédiatement après la pompe.

ÉTAPE 1. Contrôler que le débit optimal pour la combinaison d'équipement, de colonne, de type de support et de quantité utilisée a été déterminé (se reporter à la section 5.1.3).

ÉTAPE 2. S'assurer que l'on dispose de suffisamment de tampon de compactage (package). Un tampon de compactage (package) classique est du NaCl 0,1 M. Cependant, toujours vérifier les instructions accompagnant le support en ce qui concerne les tampons de compactage (package).

ÉTAPE 3. Humecter les tamis avec de l'éthanol à 20 % pour éliminer l'air piégé dans ceux-ci.

ÉTAPE 4. Régler le débit de la pompe sur le débit de compactage (package), sans raccorder la colonne à la pompe. Prendre note de la vitesse de la pompe afin de débuter le compactage (package) avec le débit correct.

ÉTAPE 5. Si le support se trouve déjà dans la colonne, retirer l'adaptateur, remuer précautionneusement le support et répéter les étapes 5 et 6 de la section 5.1.3. Si le support ne se trouve pas encore dans la colonne, répéter les étapes 1 à 6 de la section 5.1.3.

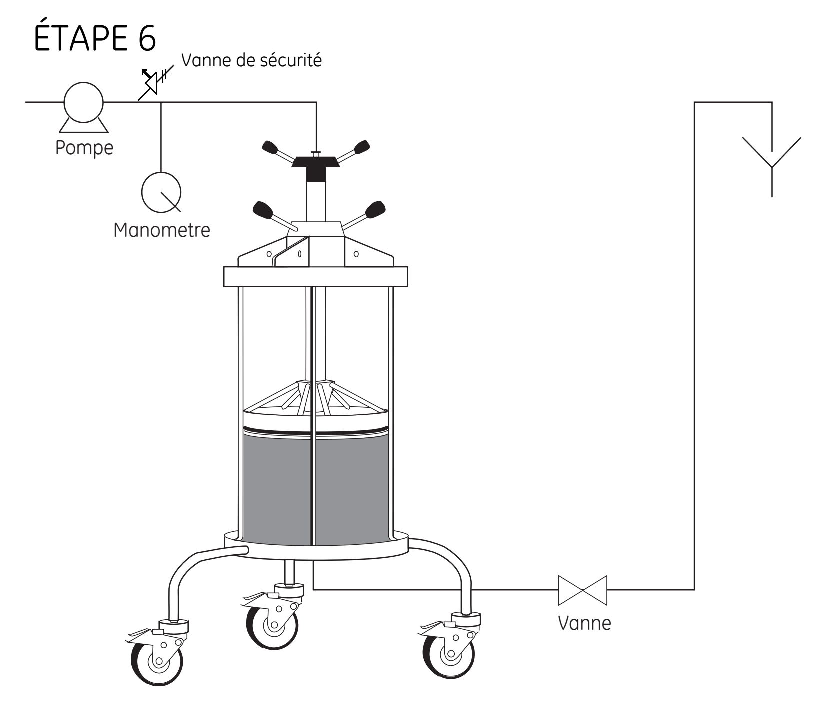


Fig 5-9. Méthode de compactage (package) de la colonne, étape 6.

ÉTAPE 6

a. Démarrer la pompe.

b. Eliminer les bulles d'air qui se trouvent dans le tuyau en provenance de la pompe en pompant à faible débit.

c. Tout en pompant à faible débit, raccorder un manomètre entre la pompe et la colonne, puis raccorder le tuyau au-dessus de la colonne.

d. Ouvrir la vanne inférieure.

e. Régler le débit à la valeur prédéfinie.

f. Mesurer régulièrement le débit et l'ajuster si nécessaire. La contre-pression du gel augmente et réduit le débit à mesure que le gel est compacté (packé).

g. S'assurer que la pression affichée sur le manomètre ne dépasse pas la pression maximale autorisée pour le support (se reporter au mode d'emploi du support utilisé) ou pour la colonne.

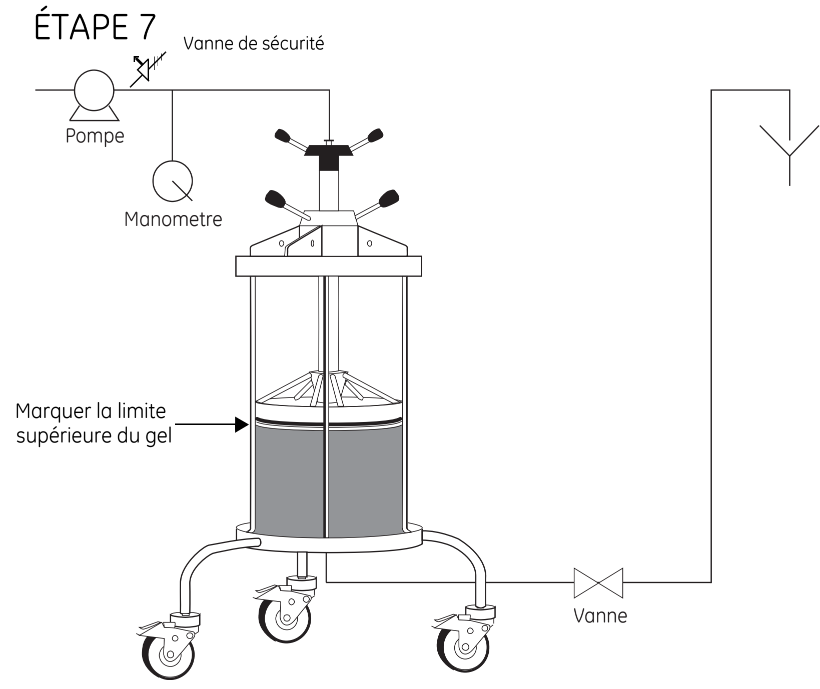


Fig 5-10. Méthode de compactage (package) de la colonne, étape 7.

ÉTAPE 7

a. Lorsque le gel a sédimenté, marquer la limite supérieure du gel.

b. Arrêter la pompe.

c. Fermer la vanne inférieure.

d. Desserrer le joint torique d'étanchéité de l'adaptateur en tournant en sens inverse des aiguilles d'une montre la molette de réglage (BPG 100, 140 et 200) ou la poignée de réglage du joint d'étanchéité (BPG 300 et 450) au-dessus de la colonne.

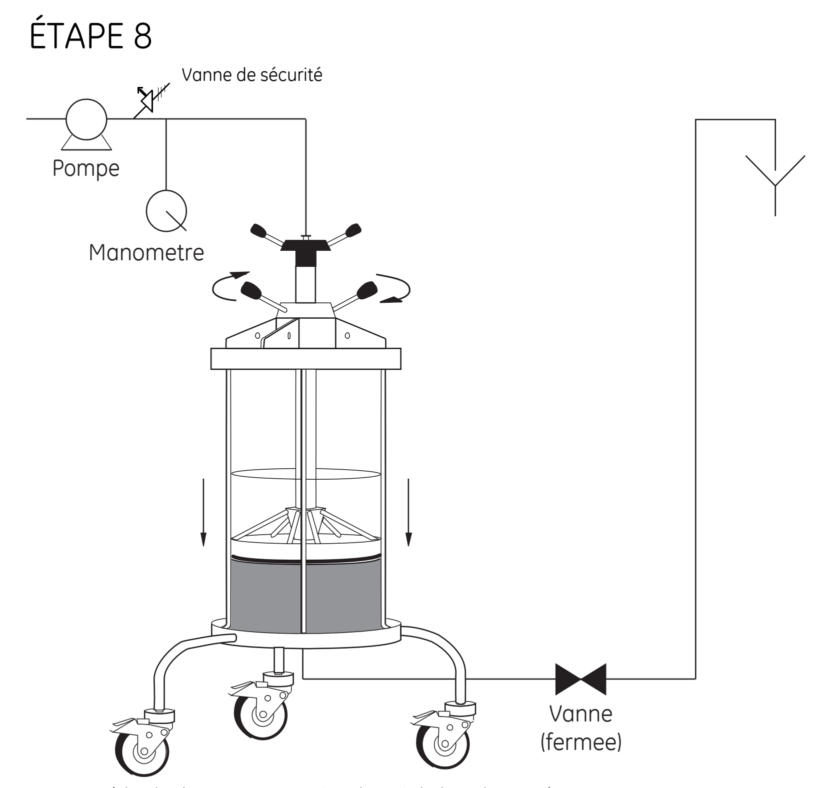


Fig 5-11. Méthode de compactage (package) de la colonne, étape 8.

ÉTAPE 8

a. Abaisser rapidement l'adaptateur en tournant la poignée de réglage de la hauteur dans le sens des aiguilles d'une montre. Le tampon entre le gel sédimenté et l'adaptateur passe entre le joint torique de l'adaptateur et la paroi de la colonne. Au cours de cette opération, le gel commence à monter. Cesser de descendre l'adaptateur lorsqu'il se trouve à 0,5 à 1 cm au-dessus du gel.

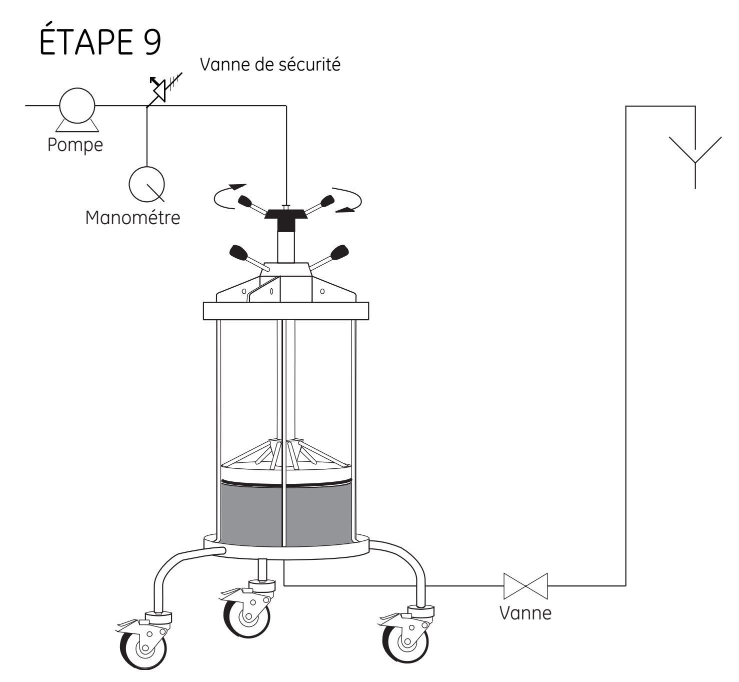


Fig 5-12. Méthode de compactage (package) de la colonne, étape 9.

ÉTAPE 9

a. Fermer hermétiquement le joint torique de l’adaptateur en tournant dans le sens des aiguilles d’une montre la molette (BPG 100, 140 et 200) ou la poignée (BPG 300 et 450) de réglage du joint d’étanchéité.

b. Ouvrir la vanne inférieure.

c. Démarrer la pompe.

d. Régler le débit sur le débit de compactage (package). Contrôler le manomètre pour s’assurer que la pression ne dépasse pas la pression maximale autorisée pour le support (se reporter au mode d’emploi du support utilisé). Le gel est à nouveau comprimé jusqu’au niveau de la marque tracée sur la colonne (lors de l’étape 7).

e. Répéter les étapes 7 et 8 jusqu’à ce que l’adaptateur atteigne la marque tracée sur la colonne.

Remarque : *Lorsqu’il ne reste plus qu’un maximum de 1 cm de liquide, ne pas ouvrir le joint torique de l’adaptateur. Au lieu de cela, utiliser la poignée de l’ajusteur de hauteur pour descendre l’adaptateur sur le dernier centimètre. Ne jamais descendre l’adaptateur de plus de 5 mm dans le gel. Débrancher le tuyau au-dessus de la colonne de manière à pouvoir éliminer l’excès de tampon par le haut de l’adaptateur.*

Ceci termine la procédure de compactage (package) de la colonne. Essuyer les éventuels résidus de tampon ou de suspension au-dessus de l'adaptateur. L'espace entre la tête de l'adaptateur et le haut de la colonne doit être sec et propre ou être rempli d'éthanol à 20 % pour prévenir toute croissance bactérienne.

Remarque : *Avant d'utiliser la colonne, toujours contrôler les performances de la colonne compactée (packée). Voir les instructions relatives à cette procédure à la section 5.2 ci-après.*

5.2 Evaluation de la colonne

L'efficacité d'une colonne dépend de la qualité de son compactage (package). Une colonne mal compactée (packée) engendre un débit irrégulier, ce qui résulte en un élargissement de la zone et une moins bonne résolution. Il est donc important de disposer d'une méthode permettant de tester la colonne avant sa mise en service. Une telle méthode doit être simple, quantitative et ne pas introduire de matériaux contaminants. Il est également avantageux de pouvoir utiliser la même méthode pour contrôler les performances de la colonne au cours de sa durée de vie utile, de manière à pouvoir aisément déterminer le moment où le support doit être recompacté (repacké) ou remplacé.

Les méthodes utilisant des composés colorés, comme le bleu dextran, sont à éviter car elles ne répondent pas aux critères ci-dessus et ne peuvent pas être utilisées avec les supports pour chromatographie d'échange d'ions et d'affinité.

L'expérience a démontré que la meilleure méthode pour exprimer l'efficacité d'une colonne consiste à utiliser la hauteur équivalent à un plateau théorique ou HEPT et le facteur d'asymétrie de pic ou A_S. Ces valeurs peuvent être aisément déterminées en appliquant sur la colonne un échantillon constitué, par exemple, d'une solution de NaCl ou d'acétone.

Il est important que la colonne soit correctement équilibrée avant de procéder à l'évaluation du compactage (package) (2 fois le volume de la colonne). Il est préférable d'effectuer trois séparations de test afin de vérifier si les valeurs du test sont stables. Si un mauvais résultat s'améliore au cours du test, cela peut être dû à un équilibrage incorrect de la colonne. Pour contrôler que le gel est stable, faire fonctionner la colonne sous 70 % de sa pression de compactage (package) pendant 20 heures et la retester (de préférence avec trois séparations de test).

On notera que des pics de pression risquent d'engendrer un compactage (package) de mauvaise qualité (craquelures). Si cela se produit, il convient d'installer un piège à air et une vanne de décompression entre la pompe et la colonne. La vanne de décompression doit être placée entre le piège à air et la colonne.

5.2.1 Choix de l'échantillon de test pour les colonnes

Le matériau le plus approprié pour le test de la colonne est bien entendu l'échantillon qui sera utilisé dans l'application mais, pour des raisons pratiques ou économiques, cela n'est pas toujours réalisable. Comme alternative, on peut utiliser une solution de NaCl ou d'acétone, qui fournira une bonne indication de la qualité du compactage (package) de la colonne. L'éluat est suivi par mesure de la conductivité ou de l'absorption UV ; le profil d'élution obtenu s'utilise pour calculer la valeur du paramètre HEPT.

L'avantage de l'utilisation d'une solution de NaCl est qu'une telle solution est immédiatement disponible et peut être utilisée en toute sécurité pour tester toutes les colonnes. Un inconvénient est que le NaCl risque d'interagir avec la matrice du gel, en particulier dans le cas des matrices échangeuses d'ions, et par conséquent de fournir des résultats erronés.

L'acétone, par contre, n'interagit pas avec la matrice et est détectable par absorption UV à 280 nm. On peut également augmenter d'un facteur 10 la concentration du tampon de séparation et l'utiliser comme échantillon de test.

La figure 5-13 ci-dessous illustre le diagramme d'absoption UV pour l'acétone obtenu avec une application classique utilisant une colonne BPG et fourni les valeurs calculées des paramètres HEPT et A_s.

Colonne : BPG 300
Support : Sepharose 6 Fast Flow
Hauteur de gel : 57,5 cm
Volume de gel : 40,6 litres
Eluant : Eau distillée
Echantillon : 1,05 litres
(acétone 1 %, NaCl 1 %)
Débit : 19 cm/h
V_e = 18,8
l_h = 0,9
HEPT = 0,024 cm
a = 0,90
b = 0,85
b/a = 0,85/0,90
A_s = 0,94

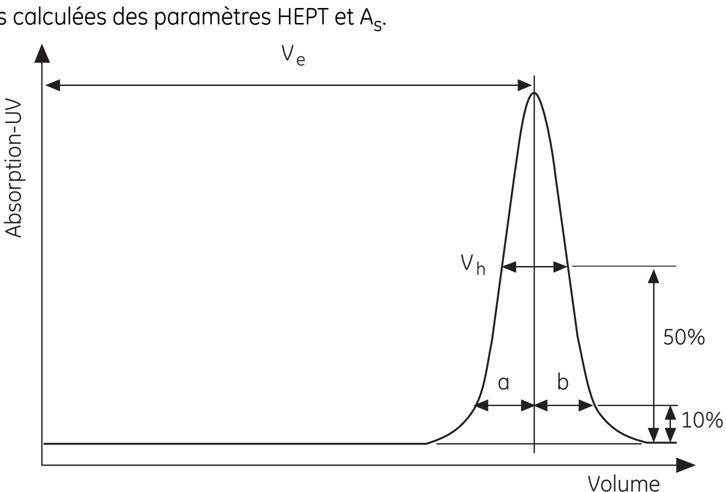


Fig 5-13. Chromatogramme de test illustrant le calcul des paramètres HEPT et A_s.

5.2.2 Calcul du paramètre HEPT

Le volume d'échantillon doit être égal à environ 1 % du volume total de gel et la concentration sera de 1,0 % v/v de NaCl ou l'équivalent lors de l'utilisation d'un tampon plus concentré. On peut également utiliser de l'acétone à 1,0 % v/v. Le débit linéaire doit être de 30 cm/h pour des supports de 34 µm et de 50 µm et de 20 cm/h pour des supports de 90 µm. Pour éviter toute dilution de l'échantillon, appliquer celui-ci le plus près possible de l'entrée de la colonne. Si le système comprend un piège à air, celui-ci doit être court-circuité pendant l'application de l'échantillon afin d'éviter un rétromélange. Calculer la valeur du paramètre HEPT à partir de la courbe de conductivité (ou d'absorption UV) de la manière suivante :

Le paramètre HEPT, sous sa forme la plus simple, est exprimé comme :

HEPT = L/N

où

L = hauteur de gel (cm)

N = nombre de plateaux théoriques.

N est défini par l'équation :

N = $5{,}54\,(V_e / l_h)^2$

où

$\mathbf{V_e}$ = volume d'élution (ml)

$\mathbf{l_h}$= largeur du pic à mi-hauteur (ml)

$\mathbf{V_e}$ est mesuré comme le volume ayant traversé la colonne entre le milieu de l'application de l'échantillon et le maximum du pic.

$\mathbf{l_h}$ est mesuré comme la largeur à mi-hauteur du pic (de la base au sommet).

Dans l'exemple de la figure 5-13, la valeur du paramètre HEPT peut être calculée à partir du chromatogramme de la manière suivante :

Tableau 5-3. Calcul de HEPT.

	V_e (ml)	l_h (ml)	N	N/m	HEPT cm
Acétone	18800	900	2417	4203	0,024

Des colonnes correctement compactées (packées) présenteront des valeurs du paramètre HEPT faibles. Néanmoins, il n'est possible de comparer que des

colonnes qui ont été compactées (packées) avec le même type de support et qui ont été testées sous des conditions identiques.

Comme règle empirique générale, une valeur correcte du paramètre HEPT est de l'ordre de deux à trois fois le diamètre moyen des billes du support utilisé, à condition que l'échantillon n'interagisse pas avec le support.

En pratique, la corrélation entre la valeur du paramètre HEPT et les performances de la colonne ne peuvent être évaluées que par les spécifications internes du client. Lorsque ce point a été établi, il est possible de définir une norme pour pouvoir juger de l'acceptabilité du compactage (package) de la colonne.

Par exemple, l'opérateur de la colonne peut savoir par expérience qu'une colonne compactée (packée) avec du gel Sephadex G-25 fournissant des valeurs du paramètre HEPT supérieures à 0,05 cm n'assure pas la séparation voulue. Par conséquent, l'opérateur de la colonne définira cette valeur comme étant la valeur maximale admissible, c'est-à-dire la qualité minimale acceptable.

5.2.3 Calcul du facteur d'asymétrie de pic

La forme du pic doit être la plus symétrique possible. C'est généralement le cas pour les supports de filtration sur gel, mais pour certains supports pour chromatographie d'échange d'ions et d'affinité, il peut être asymétrique en raison d'interactions avec le support.

Une modification de la forme du pic est habituellement la première indication d'une détérioration du gel chromatographique. Le facteur d'asymétrie du pic, As, doit être le plus proche possible de 1.

Le facteur d'asymétrie du pic, $\mathbf{A_s}$, est calculé à partir du diagramme de la figure 5-13 selon la formule suivante :

$$\mathbf{A_s = b/a}$$

où

a = distance entre le sommet du pic et 10 % de la hauteur du pic du côté ascendant du pic

b = distance entre le sommet du pic et 10 % de la hauteur du pic du côté descendant du pic

Remarque : *La mesure des valeurs de HEPT et de A_s est le meilleur moyen de juger de la qualité de la colonne compactée (packée). Une colonne compactée (packée) peut paraître parfaite, mais nécessiter malgré tout un compactage (repackage) pour des performances optimales. Toujours tester la colonne après compactage (package) et régulièrement entre les séparations pour garantir des performances optimales de la colonne.*

6 Abréviations

Les abréviations utilisées dans ce manuel sont définies comme suit :

A_S	Facteur d'asymétrie de pic
DI	Diamètre intérieur
EPDM	Terpolymère éthylène-propylène-diène
FEP	Ethylène-propylène perfluoré
FF	Débit rapide (Fast Flow)
FPM	Copolymère d'hexafluoropropylène et de fluorure de vinylidène
HEPT	Hauteur équivalent à un plateau théorique
HR	Haute résolution
IEX	Chromatographie d'échange d'ions
L	Hauteur de gel
lh	Largeur du pic à mi-pic hauteur
N	Nombre de plateaux théoriques
NEP	Nettoyage en place
PA	Polyamide
PEEK	Polyétheréthercétone
PFR	Elastomère à base d'hydrocarbures perfluorés
POM	Polyoxyméthylène ou polyacétal
PP	3 Polypropylène
PTFE	Polytétrafluoréthylène
PVC	Chlorure de polyvinyle
THF	Tétrahydrofuranne
UV	Ultraviolet
V_e	Volume d'élution

6 Abréviations

Tableau A-1: Composants des colonnes BPG 100, 140 et 200. Les numéros d'identification font référence aux figures A-1 et A-2.

Pièce n°	Description	Matériau	En contact avec les liquides utilisés ?	Qté livrée	BPG 100 Référence	BPG 140 Référence	BPG 200 Référence
1	Tube pour colonne 500 Tube pour colonne 750 Tube pour colonne 950	Verre borosilicaté Verre borosilicaté Verre borosilicaté	- - -	1 1 1	18-0251-01 18-0251-02 18-0251-03	18-1112-95 - 18-1112-96	18-1152-01 18-1152-02 18-1152-03
2	Tige pour tube 500 Tige pour tube 750 Tige pour tube 950	316 316 316		1 1 1	18-1105-80 18-1105-81 18-1105-82	18-1105-83 - 18-1105-85	18-1105-83 18-1105-84 18-1105-85
3	Anneau de guidage	PTFE		1	18-0251-22	18-1112-97	18-0252-22
4	Tamis, 54 µm, pour pièce terminale Tamis, 23 µm, pour pièce terminale Tamis, 10 µm, pour pièce terminale Tamis, 12 µm, pour pièce terminale	PP PP PA PEEK	- - - -	2 2 2 2	18-1126-97 18-9252-01 18-0251-77 18-1148-38	18-1126-99 18-1113-00 18-1113-02 18-1148-40	18-1127-01 18-9254-01 18-0252-77 18-1148-42
5	Tamis de soutien, pour pièce terminale	PP	X	2	18-0251-55	18-1112-98	18-0252-55
6	Joint torique pour bride	EPDM	X	2	18-8494-01	18-1113-06	18-8489-01
7	Joint torique pour bride	FEP	X	1	18-0019-41	18-1113-07	18-0019-51
8	Ecrou, M6 Ecrou, M8	316 316		5 5	19-1582-01 -	- 19-0763-01	- 19-0763-01
9	Rondelle à ressort	316		4	18-8482-01	18-8482-01	18-8482-01
10	Bride	316		1	18-1134-21	18-1113-21	18-1134-22
11	Téton de positionnement de la colonne	PTFE		8	18-1003-00	-	18-1003-00
12	Pièce terminale	316L	-	1	18-1144-18	18-1113-20	18-1112-62
13	Boulon M8 x 12	316		4	-	18-1113-28	18-1113-28
14	Rondelle	316		4	18-1143-26	18-1113-29	18-1113-29
15	Support, complet	316L		1	18-1031-10	18-1031-20	18-1031-20
16	Collier 25 mm	304		1	18-1001-31	18-1001-31	18-1001-31
17	Molette de réglage	PEEK		1	18-1109-27	18-1109-27	18-1109-27
18	Ecrou à calotte sphérique	316		4	18-1143-25	18-1113-27	18-1113-27
19	Ecrou de réglage, corps	316		1	11-0003-01	18-1113-26	18-1113-26
20	Bague annulaire	POM		2	18-0264-01	18-0267-01	18-0267-01
21	Plaque supérieure	316		1	18-1143-24	18-1113-24	-
22	Ecrou de réglage, douille	PEEK		1	18-0251-20	18-0252-20	18-0252-20
23	Vis Allen, M8 × 45	316		5	19-6375-01	19-6375-01	19-6375-01
24	Vis Allen, M4 × 14	316		5	19-6356-01	19-6356-01	19-6356-01
25	Butoir	316		1	-	18-1113-25	18-1113-25
26	Vis pour tête de l'adaptateur	316		3	18-8457-01	18-8457-01	18-8457-01
27	Système d'étanchéité	316L		1	18-1147-47	18-1113-31	18-1147-48
28	Joint torique pour adaptateur	EPDM	-	2	18-8475-01	18-1113-10	18-0275-01
29	Joint torique pour adaptateur	FEP	-	1	18-0019-40	18-1113-11	18-0019-50
30	Tube interne pour adaptateur	316		1	18-1113-23	18-1113-23	18-1113-23
31	Tube externe pour adaptateur	316		1	18-1134-83	18-1134-83	18-1134-83
32	Vis, M6 × 12	316L/PTFE		3	18-1145-08	18-1145-08	18-1145-08
33	Ressort	316/L/PTFE		1	18-8491-01	18-8491-01	18-8491-01
34	Plaque pour adaptateur**	S31803***	-	1	18-1112-80	18-1113-30	18-1112-81
35	Tamis de soutien, pour adaptateur	PP	-	2	18-1103-04	18-1112-99	18-0252-56
36	Tamis, 54 µm, pour adaptateur Tamis, 23 µm, pour adaptateur Tamis, 10 µm, pour adaptateur Tamis, 12 µm, pour adaptateur	PP PP PA PEEK	- - - -	2 2 2 2	18-1126-96 18-1103-08 18-1103-05 18-1148-37	18-1126-98 18-1113-01 18-1113-03 18-1148-39	18-1127-00 18-9253-01 18-0252-76 18-1148-41
37	Joint d'étanchéité 25 mm	EPDM	-	2	18-0019-27	18-0019-27	18-0019-27
38	Pieds, pour support	316		1	18-1126-93	18-1126-93	18-1126-93
39	Roulette	-		3	18-1001-09	18-1001-09	18-1001-09
40	Vanne à 4 ports, 2 voies	316L/PTFE	-	1	18-5757-01	18-5757-01	18-5757-01
41	Tuyau*	-	-	1	-	-	-
42	Rondelle	PP		1	18-1142-79	NA	NA
43	Rondelle	PP		1	18-1142-80	18-1142-80	18-1142-80

* Voir tableau 3-3 du guide d'entretien BPG; ** Tube Ø int. 4 mm (BPG 100), 6 mm (BPG 140 et 200); *** Comparable au 316L

Tableau A-2: Composants des colonnes BPG 300. Les numéros d'identification font référence aux figures A-3 et A-4.

Pièce n°	Description	Référence	Matériau	En contact avec les liquides utilisés ?	Qté livrée
1	Plaque supérieure pour adaptateur	18-1012-48	316		1
2	Ecrou, M12	18-1012-24	316		6
3	Rondelle à ressort	18-1012-25	316		6
4	Ecrou, M10	18-1012-44	316		5
5	Bride		316		
6	Joint torique, 301 × 6 mm	18-1012-26	EPDM	-	2
7	Joint torique, 301 × 6 mm	18-1012-27	FEP	-	1
8	Tige pour T300/500 Tige pour T300/750 Tige pour T300/950	18-1012-31 18-1012-32 18-1012-33	316 316 316		1 1 1
9	Tube pour colonne T300/500 Tube pour colonne T300/750 Tube pour colonne T300/950	18-1012-28 18-1012-29 18-1012-30	Verre borosilicaté Verre borosilicaté Verre borosilicaté	- - -	1 1 1
10	Tamis, 23 µm, pour pièce terminale	18-1012-34	PA	-	2
11	Tamis, 10 µm, pour pièce terminale Tamis, 12 µm, pour pièce terminale Tamis, 54 µm, pour pièce terminale	18-1012-35 18-1148-44 18-1127-03	PP PEEK PP	- - -	2 2 2
12	Tamis de soutien, pour pièce terminale	18-1012-36	PP	-	2
13	Plaque de distribution	18-1012-37	PP	-	2
14	Pièce terminale	18-1140-47	316L	-	
15	Joint d'étanchéité, 25 mm, Ø int. 12 mm	18-0200-00	EPDM	-	5
16	Joint d'étanchéité, 25 mm, Ø int. 10 mm	18-1012-40	PTFE	-	5
17	Raccord 25 mm/10 mm*	-	PP	-	2
18	Vanne manuelle à 4 ports, 2 voies	18-1012-56	316L/PTFE	-	1
19	Support, complet	18-1012-38	316L		-
20	Rondelle	18-1012-61	316		6
21	Boulon M12 × 25	18-1012-65	316		6
22	Roulette	18-1001-09	-		1
23	Ajusteur de joint d'étanchéité	18-1012-41	PEEK		1
24	Ajusteur de hauteur de l'adaptateur	18-1128-31	316		1
25	Bague annulaire	18-1012-42	POM		2
26	Plaque supérieure pour adaptateur	18-1129-06	316L		-
27	Ecrou, M10	18-1012-44	316		5
28	Vis d'arrêt, complète	18-1012-43	316/POM		1
29	Ecrou de réglage, douille	18-1012-45	PEEK		1
30	Système d'étanchéité	18-1147-49	316L		-
31	Vis pour tête de l'adaptateur, M8	18-1012-46	316		3
32	Vis Allen, M8 × 60	18-1012-47	316		5
33	Joint torique, 274 × 8 mm	18-1012-51	EPDM	-	2
34	Joint torique, 274 × 8 mm	18-1012-52	FEP	-	1
35	Tube interne pour adaptateur	18-1147-83	316		
36	Tube externe pour adaptateur	18-1142-93	316L		1
37	Vis, M8 × 16	18-1145-10	316L/PTFE		5
38	Ressort	18-1012-50	316/L/PTFE		1
39	Plaque pour adaptateur**	18-1112-82	S31803***	-	1
40	Tamis de soutien, pour adaptateur	18-1012-53	PP	-	2
41	Tamis, 23 µm, pour adaptateur	18-1012-54	PP	-	2
42	Tamis, 10 µm, pour adaptateur Tamis, 12 µm, pour adaptateur Tamis, 54 µm, pour adaptateur	18-1012-55 18-1148-43 18-1127-02	PA PEEK PP	- - -	2 2 2
43	Tuyau*	-	PVC	-	
44	Collier, 25 mm	18-1001-31	304		1
45	Support pour roulette	18-1033-33	POM/316		1

* Voir tableau 3-4 du guide d'entretien BPG; ** Tube Ø int. 10 mm; *** Comparable au 316L

Tableau A-3: Composants des colonnes BPG 450. Les numéros d'identification font référence à la figure A-5.

Pièce n°	Description	Référence	Matériau	En contact avec les liquides utilisés ?	Qté livrée
1	Pièce terminale	18-1109-67	316L	-	1
2	Tamis de soutien, pour pièce terminale	18-1104-35	PP	-	1
3	Bride	18-1109-68	PP/316	-	1
4	Joint d'étanchéité en U Joint d'étanchéité en U	18-1104-40 18-1117-55	EPDM PFR	- -	1 1
5	Tamis, 54 µm, pour pièce terminale Tamis, 23 µm, pour pièce terminale Tamis, 10 µm, pour pièce terminale Tamis, 12 µm, pour pièce terminale	18-1127-05 18-1103-19 18-1103-18 18-1148-46	PP PP PA PEEK	- - - -	1 1 1 1
6	Joint torique pour bride 446 × 6 Joint torique pour bride 446 × 6	18-1105-33 18-1117-67	EPDM FEP	- -	2 1
7	Vis Allen, M8 × 50	18-1109-40	316		5
8	Tige pour BPG 450/500 Tige pour BPG 450/750 Tige pour BPG 450/1000	18-1106-18 18-1103-09 18-1103-10	316 316 316		1 1 1
9	Système d'étanchéité	18-1109-69	316L		1
10	Boulon à ergot	18-3001-07	316		3
11	Vis d'arrêt	19-4363-01	316		2
12	Tube en verre pour BPG 450/500 Tube en verre 450/750 Tube en verre 450/1000	18-1103-14 18-1103-15 18-1103-16	Verre borosilicaté Verre borosilicaté Verre borosilicaté	- - -	1 1 1
13	Bouchon pour arrêt pivotant	18-1107-43	POM		1
14	Arrêt pivotant	18-1109-41	316L		1
15	Vis M8 ×50	18-1109-40	316		5
16	Entretoise	18-1109-42	316L		1
17	Couvercle	18-1109-70	316		1
18	Bague annulaire	18-1109-43	PP		2
19	Ajusteur de hauteur de l'adaptateur	18-1109-44	POM		1
20	Poignée	18-1109-45	316		1
21	Ecrou pour bride	18-1109-46	PEEK		1
23	Ajusteur de joint d'étanchéité	18-1109-47	PEEK		1
24	Poignée	18-1109-48	316		1
25	Molette	18-1109-49	PP		1
26	Vis M10 × 65	18-1109-50	316		2
27	Rondelle 10,5 × 20	18-1109-51	316		10
28	Ecrou à calotte sphérique M10 avec rondelle	18-1103-20	316		1
29	Vis pour adaptateur	18-1109-54	316L		1
30	Tube de réglage	18-1109-55	316		1
31	Tube d'entrée Ø int. 12 mm	18-1109-53	316L	-	1
32	Joint torique 12,3 × 2,4 Joint torique 12,3 × 2,4	18-1103-70 18-1117-65	EPDM FEP	- -	2 1
33	Vis M4 × 16	18-1109-56	316		2
34	Ressort	18-1107-44	316/L/PTFE		1
35	Vis M5 × 10	18-1109-57	316		2
36	Bouchon à encliquer	18-1107-45	PP	-	2
38	Plaque pour adaptateur	18-1109-71	S31803*	-	1
39	Vis M8 × 25	18-1145-12	316L/PTFE		3
40	Joint torique 419 × 10 Joint torique 419 × 10	18-1017-47 18-1117-66	EPDM FEP	- -	1 1
41	Plaque de distribution	18-1106-04	PP	-	1

*Comparable au 316L

(suite à la page suivante)

(Suite des notes à la page suivante)

Tableau A-3: Composants des colonnes BPG 450. Les numéros d'identification font référence à la figure A-5.

Pièce n°	Description	Référence	Matériau	En contact avec les liquides utilisés ?	Qté livrée
42	Tamis de soutien pour adaptateur	18-1104-34	PP	-	1
43	Tamis, 54 µm, pour adaptateur Tamis, 23 µm, pour adaptateur Tamis, 10 µm, pour adaptateur Tamis, 12 µm, pour adaptateur	18-1127-04 18-1001-62 18-1017-46 18-1148-45	PP PP PA PEEK	- - - -	1 1 1 1
44	Vis M10 × 80	18-1109-59	316		2
45	Vis M10 ×16	18-1109-60	316		2
46	Equerre	18-1109-61	316		1
47	Vis M5 × 16	18-1109-62	316		2
48	Tube d'entrée inférieur	18-1109-63	316L	-	1
50	Vis Allen, M10 × 40	18-1109-65	316		2
51	Jambe	18-1109-66	316		1
52	Support pour roulette	18-1107-46	POM/316		1
53	Roulette Boulon à œil	18-1177-75 18-1109-64			1 1
54	Butoir pour adaptateur	18-1115-18	316		1

Index

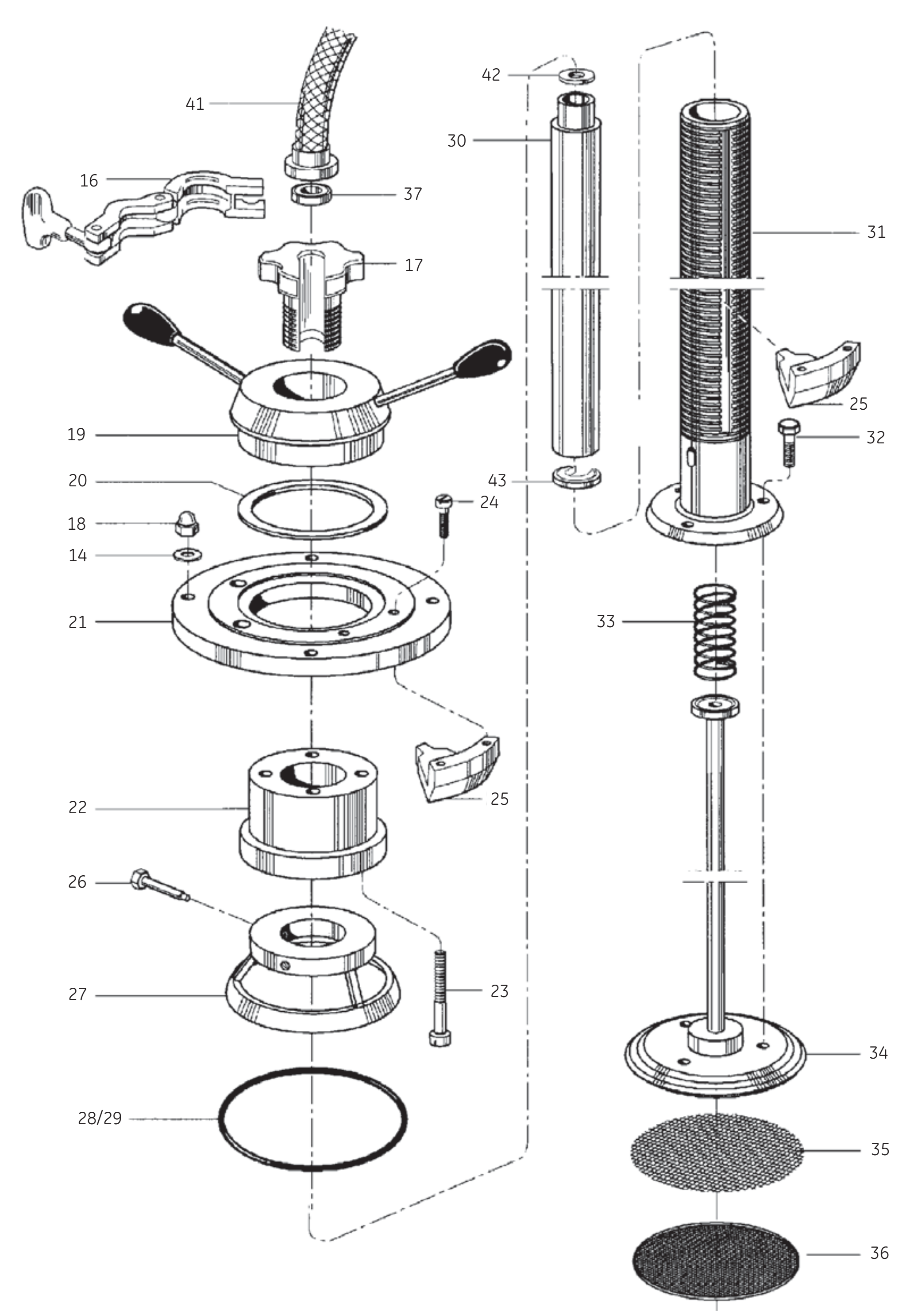


Figure A-1. Identification des pièces des colonnes BPG 100, 140 et 200.

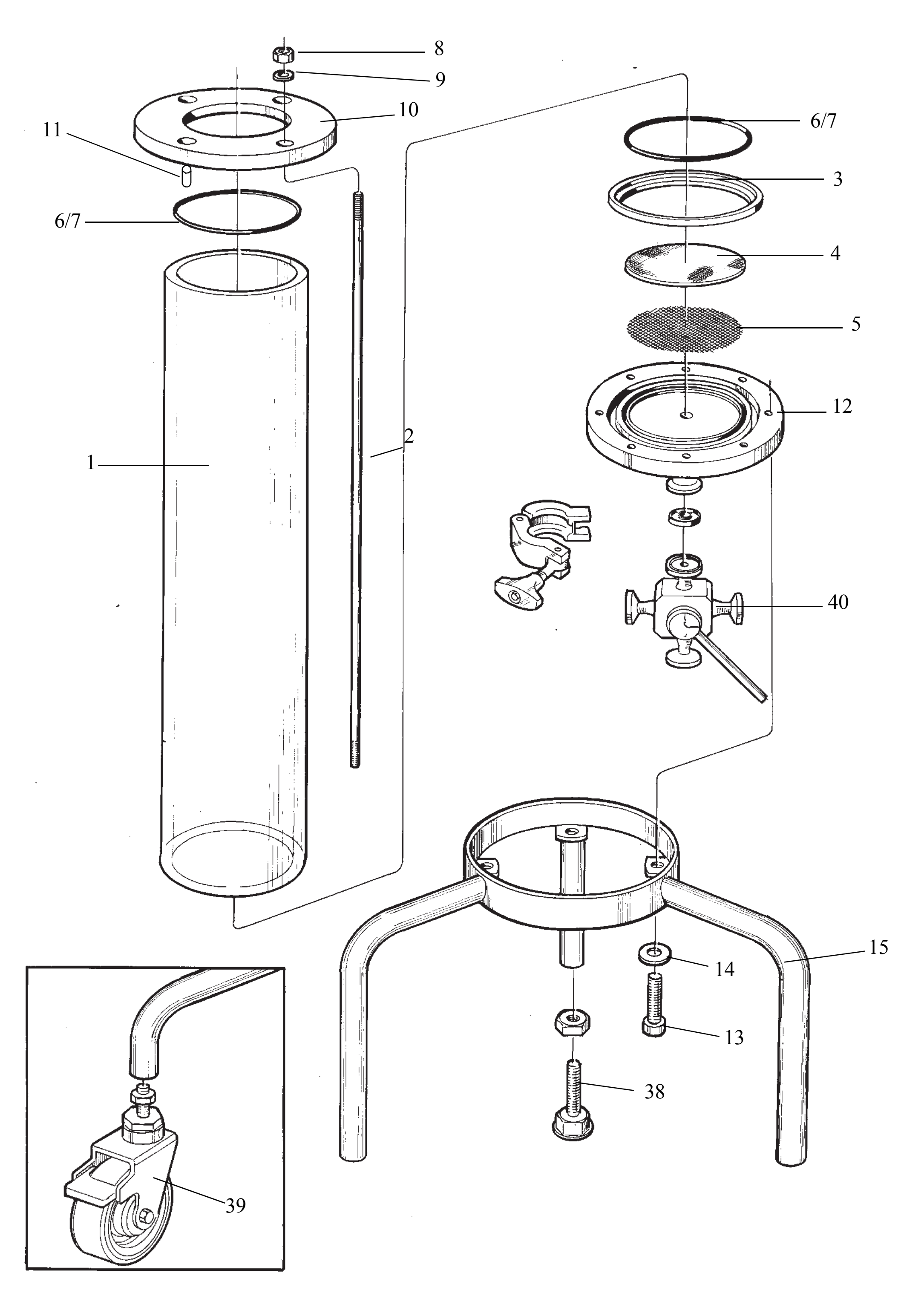


Figure A-2. Identification des pièces des colonnes BPG 100, 140 et 200 (suite).

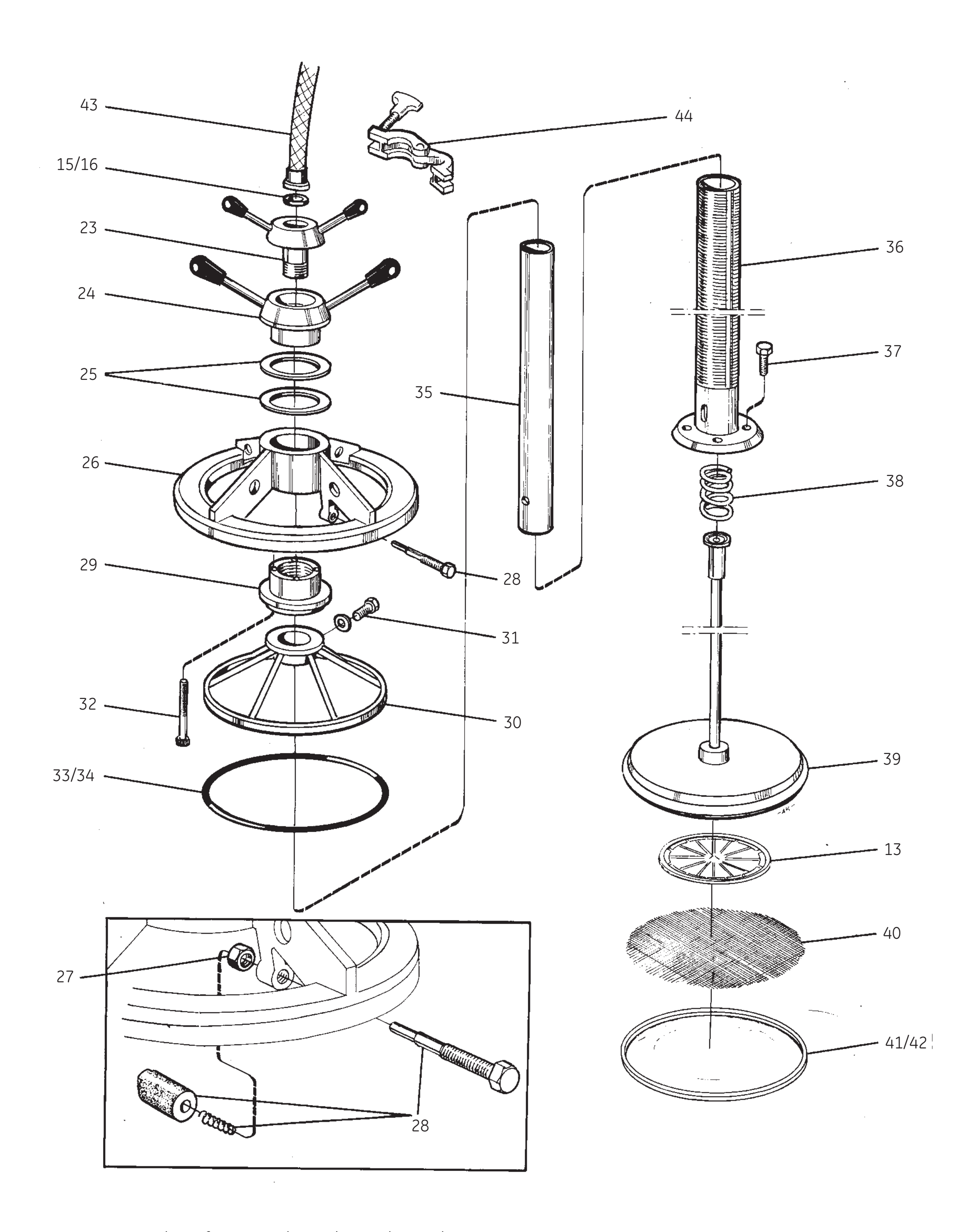


Figure A-3. Identification des pièces des colonnes BPG 300.

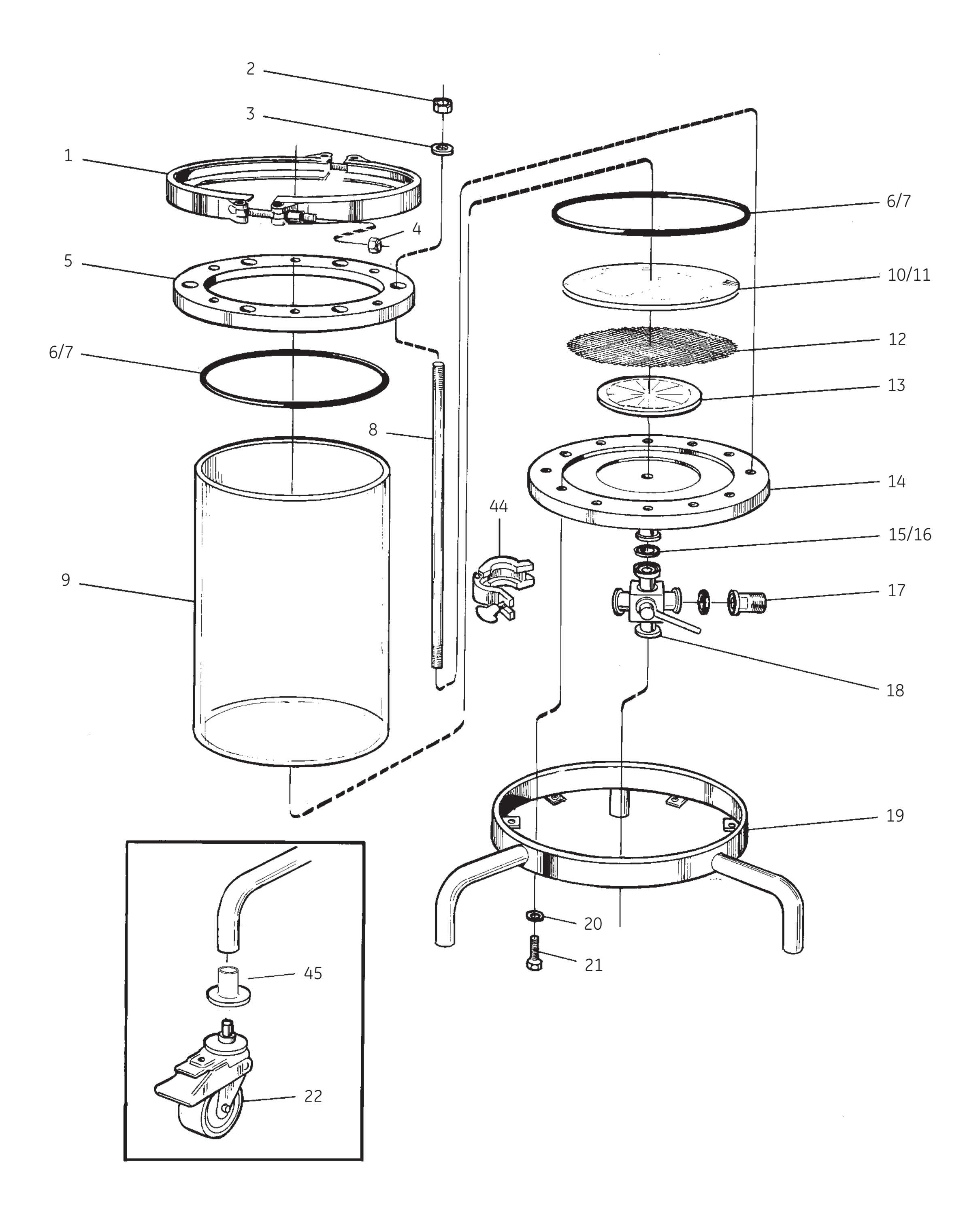


Figure A-4. Identification des pièces des colonnes BPG 300 (suite).

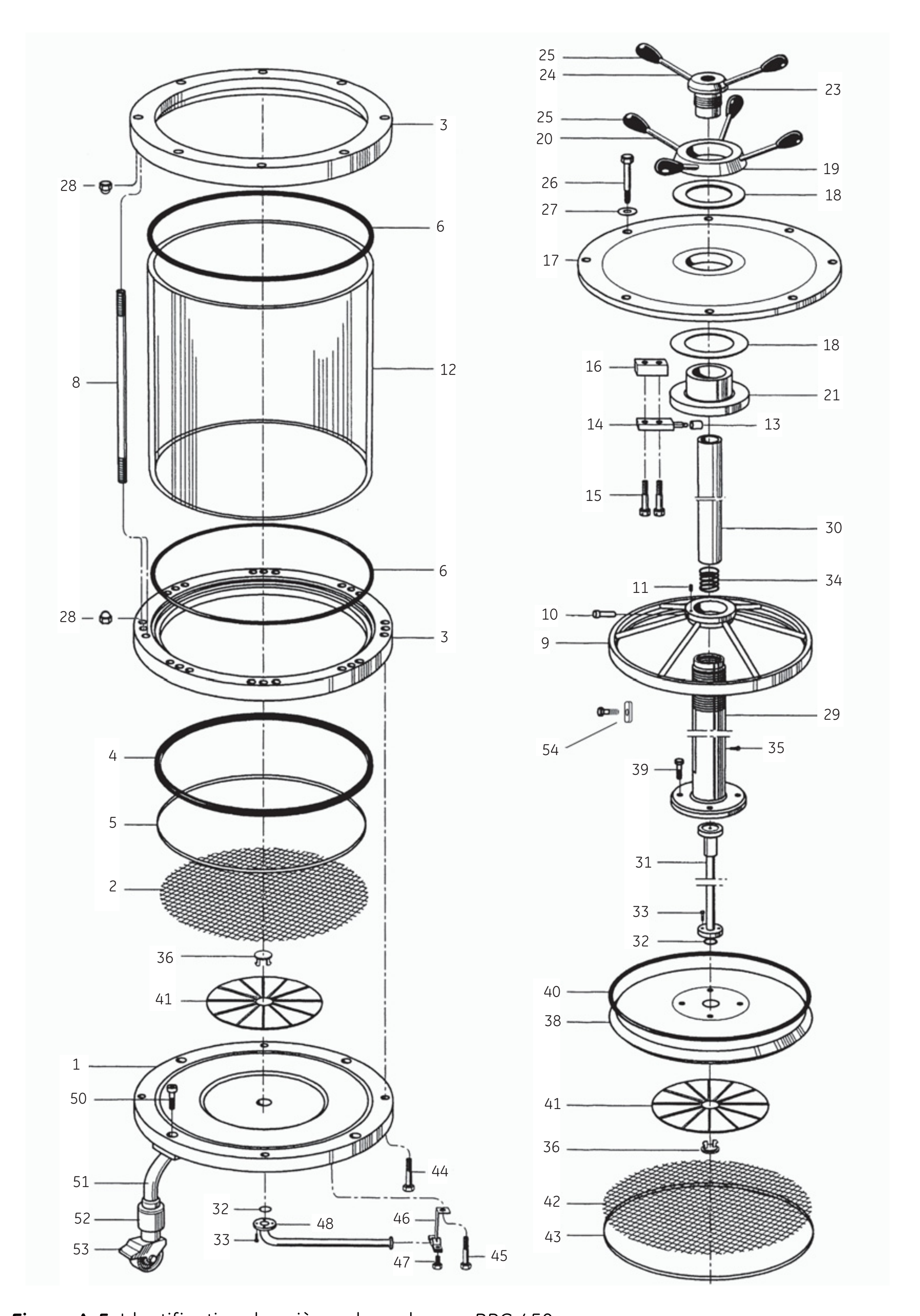


Figure A-5. Identification des pièces des colonnes BPG 450.

Pour connaître les contacts locaux, visiter le site
www.gelifesciences.com/contact

www.gelifesciences.com

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Bjorkgatan 30
751 84 Uppsala
Suède

Première publication : février 2003

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5
D-79111 Freiburg
Allemagne

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Royaume-Uni

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue
P.O. Box 1327
Piscataway, NJ 08855-1327
États-Unis

GE Healthcare Bio-Sciences KK
Sanken Bldg.3-25-1
Hyakunincho Shinjuku-ku
Tokyo 169-0073
Japon



Manuel de l'utilisateur 18-1170-70 AC 03/2007

Elanders Östervåla 2007